

(19) 【発行国】 日本国特許庁 (JP)

(19) [Publication Office] Japanese Patent Office (JP)

(12) 【公報種別】 公開特許公報 (A)

(12) [Kind of Document] Japan Unexamined Patent Publication (A)

(11) 【公開番号】 特開 2000-302687 (P2000-302687A)

(11) [Publication Number of Unexamined Application] Japan Unexamined Patent Publication 2000 - 302687(P2000 - 302687A)

(43) 【公開日】 平成 12 年 10 月 31 日 (2000. 10. 31)

(43) [Publication Date of Unexamined Application] 2000 October 31 day (2000.10.31)

(54) 【発明の名称】 抗菌性オリゴマー及び抗菌剤

(54) [Title of Invention] ANTIMICROBIAL OLIGOMER AND ANTIBIOTIC

(51) 【国際特許分類第 7 版】

(51) [International Patent Classification 7th Edition]

A61K 31/785

A61K 31/785

A61P 31/04

A61P 31/04

C08G 61/08

C08G 61/08

【FI】

[FI]

A61K 31/785

A61K 31/785

31/00 631 C

31/00 631 C

C08G 61/08

C08G 61/08

【審査請求】 未請求

[Request for Examination] Examination not requested

【請求項の数】 3

[Number of Claims] 3

【出願形態】 OL

[Form of Application] OL

【全頁数】 15

[Number of Pages in Document] 15

(21) 【出願番号】 特願平 11-114633

(21) [Application Number] Japan Patent Application Hei 11 - 114633

(22) 【出願日】 平成 11 年 4 月 22 日 (1999. 4. 22)

(22) [Application Date] 1999 April 22 day (1999.4.22)

(71) 【出願人】

(71) [Applicant]

【識別番号】 000173762

[Applicant Code] 000173762

【氏名又は名称】 財団法人相模中央化学研究所

[Name] SAGAMI CHEMICAL RESEARCH CENTER (DB 69-2-6959)

【住所又は居所】 神奈川県相模原市西大沼 4 丁目 4 番 1 号

[Address] Kanagawa Prefecture Sagami-hara City Nishi Onuma Chome 4-1

(72) 【発明者】

【氏名】 上村 大輔

【住所又は居所】 愛知県名古屋市中区千種 1-6-32

(72) 【発明者】

【氏名】 有本 博一

【住所又は居所】 静岡県清水市折戸 1-20-7

(72) 【発明者】

【氏名】 山田 薫

【住所又は居所】 東京都世田谷区成城 3-10-33

(72) 【発明者】

【氏名】 矢澤 一良

【住所又は居所】 神奈川県藤沢市鵠沼松が岡 3-19-9

【テーマコード（参考）】 4C0864J032

【Fターム（参考）】 4C086 AA01 AA02 AA03 FA03 MA01
(57) 【要約】

【課題】 細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマー及び抗菌剤を提供する。

【解決手段】 抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2～30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー。

【効果】 上記抗菌性オリゴマーはグラム陽性菌、特にバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対して優れた抗菌作用を持ち、例えば、抗菌剤、除菌剤等の医薬としての用途を有する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の

(72) [Inventor]

[Name] Uemura Daisuke

[Address] Aichi Prefecture Nagoya City Chikusa-ku north Chikusa 1 - 6 - 32

(72) [Inventor]

[Name] Arimoto Hirokazu

[Address] Shizuoka Prefecture Shimizu City folding door 1 - 20 - 7

(72) [Inventor]

[Name] Yamada Kaoru

[Address] Tokyo Setagaya-ku Seijo 3 - 10 - 33

(72) [Inventor]

[Name] Yazawa Kazuyoshi

[Address] Kanagawa Prefecture Fujisawa City Yamate 3 - 19 - 9

[Theme Code (Reference)] 4C0864J032

(57) [Abstract]

[Problem] Bacteria and especially gram positive bacteria, vis-a-vis vancomycin resistance Enterococcus (VRE) and methicillin resistance Staphylococcus aureus (MRSA) is superior novel antimicrobial oligomer and antibiotic which possess antibacterial action which are offered even among them.

[Means of Solution] It possesses chemical structure of antibiotic in side chain of each repeat unit, the average degree of polymerization is 2 to 30, in bacteria which shows resistance in antibiotic the active antimicrobial oligomer.

[Effect(s)] Above-mentioned antimicrobial oligomer has application with antibacterial action which is superior vis-a-vis gram positive bacteria, especially vancomycin resistance Enterococcus (VRE) and methicillin resistance Staphylococcus aureus (MRSA), as the for example antibiotic and disinfectant or other pharmaceutical.

[Claim(s)]

[Claim 1] It possesses chemical structure of antibiotic in side c

側鎖に有し、平均重合度が2～30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー。

【請求項2】 抗生物質が、バンコマイシン、テイコブラニン、リストセチンA、又はエレモマイシンである、請求項1に記載の抗菌性オリゴマー。

【請求項3】 抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌剤であって、抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2～30の範囲であるオリゴマーを有効成分とする抗菌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対して抗菌作用を持つ新規抗菌性オリゴマー及び該オリゴマーを有効成分とする抗菌剤に関する。

【0002】

【従来の技術】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）は半合成ペニシリンであるメチシリンの使用開始1年後の1961年に英国で見出された後世界各地に広がり、我が国でも1982年以降、時に致命的となる院内感染の原因菌として大きな問題となっている。バンコマイシンはグリコペプチド系抗生物質の一つで、MRSA感染症に有効な唯一の薬剤として汎用されているが、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が日本、米国で報告されたのに続いて、最近では米国でバンコマイシン耐性MRSAの出現を示唆する報告が相次いでいる。また、腸内でVREと接触することによりMRSAがバンコマイシン耐性形質を獲得するとの研究報告もあり、バンコマイシン耐性菌に対する対策が急務となっている。バンコマイシンの抗菌作用は菌の細胞壁に存在するペプチドグリカン前駆体の-D-Ala-D-Ala部分に結合し、細胞壁合成を阻害することによる。また、VREでは同前駆体の-D-Ala-D-Ala部分が-D-Ala-D-Lacに変換されており、バンコマイシンの結合が弱くなっているとされる。一方、ある受容体に対応するリガンド構造を各繰り返し単位の側鎖に持つ高分子重合体はその受容体に対して有効なアゴニストまたはアンタゴニストとして働くとの報告があり、リガンドとして各種糖鎖、チミン、ペニシリン等を導入した例がある（Kiessling, L. L. and Pohl, N. L., Chemistry & amp: Biology, 1996, 3, 71, Gibson, V. C., et al., Chem. Comm., 1997, 1095, Biagini, S. C. G., et al

hain of each repeat unit, the average degree of polymerization is 2 to 30, in bacteria which shows resistance in antibiotic the active antimicrobial oligomer.

[Claim 2] Antibiotic, vancomycin and Tニンprdistセ tin A, is the (エレモ mycin, antimicrobial oligomer which is stated in Claim 1.

[Claim 3] Being a active antibiotic in bacteria which shows resistance in antibiotic, it possesses chemical structure of antibiotic in side chain of each repeat unit, antibiotic which designates oligomer where average degree of polymerization is range of 2 to 30 as the active ingredient.

[Description of the Invention]

[0001]

[Technological Field of Invention] This invention bacteria and especially gram positive bacteria, vis-a-vis vancomycin resistance Enterococcus (VRE) and the methicillin resistance Staphylococcus aureus (MRSA) have antibacterial action regard antibiotic which designates novel antimicrobial oligomer and said oligomer which as active ingredient even in.

[0002]

[Prior Art] Methicillin resistance Staphylococcus aureus (MRSA) after in 1961 after start of use 1 year of methicillin which is a semi-synthetic penicillin being discovered with United Kingdom has become big problem as the cause microbe of hospital-acquired infection which in world each area even with spreading and the our country becomes fatal after and time 1982. vancomycin with one of glycopeptide antibiotic, is widely used in the MRSA infection as drug of effective only one but although vancomycin resistance Enterococcus (VRE) was reported with Japan and United States, continuously, recently report which suggests appearance of vancomycin resistance MRSA with United States is sequential. In addition, when MRSA acquires vancomycin resistance character by contacting with VRE inside intestine, there is also a research report, countermeasure for vancomycin resistant fungi has become urgent business. It connects antibacterial action of vancomycin to -D-Ala-D-Ala-portion of peptidoglycan precursor which exists in cell wall of microbe, it depends on obstructing cell wall synthesis. In addition, with VRE -D-Ala-D-Ala-portion of same precursor is converted by -D-Ala-D-Lac-, it assumes that connection of vancomycin has become weak. On one hand, vis-a-vis receptor, there is report, that polymer which has ligand structure which corresponds to a certain receptor in side chain of each repeat unit it works as effective agonist or antagonist various sugar chain, there is an example which introduces thymine and penicillin etc as the

., *ibid.*, 1997, 1097.). しかしながら、より複雑な天然分子またはペプチドをリガンド構造として重合体に導入した例は知られておらず、さらにその重合体が、用いたリガンド抗菌剤の耐性菌に対して顕著な抗菌効果を示した例は見られない。

[0003]

【発明が解決しようとする課題】そこで本発明は、グラム陽性菌、特にVREやMRSAに対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマー及び抗菌剤を提供することを目的とする。

[0004]

【課題を解決するための手段】本発明者らは、抗生物質に重合活性を有する構造を結合し、重合することによって各種オリゴマーを合成し、その抗菌活性を評価した結果、前記のオリゴマーが、VREやMRSAに対して優れた抗菌作用を有することを見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明は、抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2～30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー、及び抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌剤であって、抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2～30の範囲であるオリゴマーを有効成分とする抗菌剤を提供する。本発明において、抗菌剤とは除菌剤を含み、「抗生物質に耐性を示す細菌に活性な」とは、該耐性菌に対して抗菌活性を示すことを意味し、とくに元の抗生物質よりも少なくとも2倍以上、通常3倍以上の抗菌活性を示すことを意味する。

[0005]

【発明の実施の形態】本発明の抗菌性オリゴマーは抗生物質に重合活性基を有する化合物を反応させて得られるモノマーを重合することによって得られる。抗生物質としては目的の重合体に導入できるものであればいかなるものでもよいが、好ましいものとしてグリコペプチド系抗生物質、特にMRSAに強い抗菌作用を示すバンコマイシン及びテイコブラニン、エレモマイシン、リスセチンA等を例示することができる。重合法はいかなるものでもよいが、反応条件が温和なものが好ましく、例えば開環メタセシス重合法を挙げることができる (Lynn, D. M., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 784)

ligand, (KieSSLing, L. L. and Pohl, N. L., *Chemistry & biology*, 1996, 3, 71, Gibson, V. C., et al., *Chem. Comm.*, 1997, 1095 and Biagini, S. C. G., et al., *ibid.*, 1997, 1097.). But from example which is introduced into polymer with the complex natural molecule or peptide as ligand structure is not known, furthermore as for the example which shows marked antibacterial effect vis-a-vis resistant fungi of ligand antibiotic which is used cannot see its polymer.

[0003]

[Problems to be Solved by the Invention] This invention designates that novel antimicrobial oligomer and antibiotic which possess the antibacterial action which is superior vis-a-vis gram positive bacteria, especially VRE and the MRSA are offered as objective then.

[0004]

[Means to Solve the Problems] These inventors connected structure which possesses polymerization activity in antibiotic, synthesized various oligomer by polymerizing, as for result of appraising antibiotic activity, aforementioned oligomer, discovered fact that it possesses antibacterial action which is superior vis-a-vis VRE and the MRSA completed this invention namely, this invention to have chemical structure of antibiotic in side chain of each repeat unit, the average degree of polymerization being 2 to 30, being active antibiotic in bacteria which in the bacteria which shows resistance in antibiotic shows resistance in active antimicrobial oligomer, the and antibiotic, it possesses chemical structure of antibiotic in the side chain of each repeat unit, it offers antibiotic which designates oligomer where average degree of polymerization is range of 2 to 30 as active ingredient. Regarding to this invention, antibiotic including disinfectant, "In bacteria which shows resistance in antibiotic active" with, it means fact that antibiotic activity is shown vis-a-vis said resistant fungi at least 2 times or more and it means fact that usually antibiotic activity of 3 times or greater is shown in comparison with especially original antibiotic.

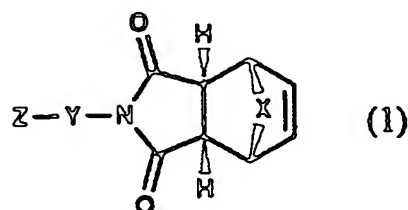
[0005]

[Embodiment of Invention] Antimicrobial oligomer of this invention is acquired compound which possesses polymerization activity basis in antibiotic reacting, by polymerizing monomer which is acquired. If it is something which can be introduced in polymer of object as antibiotic, it is good any ones glycopeptide antibiotic, vancomycin and the T. ニン which show antibacterial action which is strong in the especially MRSA, it is possible, but as desirable ones to illustrate. エレモ mycin and lisセ tin A etc. polymerization method is good any ones, but reaction condition moderate temperature ones to be desirable, can list for example ring opening metathesis

。開環メタセシス重合反応は溶媒を用い、必要に応じて界面活性剤を添加して、エマルジョン、懸濁液又は溶液の状態で行なう。溶媒としては、メタノール、エタノール、プロピルアルコール等のアルコール類、アセトン、メチルイソブチルケトン等のケトン類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等のエーテル類、ジクロロメタン等のハロゲン化炭化水素あるいはこれらあるいは水との混合溶媒を挙げることができる。とくに、得られるオリゴマーの抗菌活性の点から、溶液状態で行うことが好ましく、アルコール溶液、とくにメタノール溶液で行なうのが好ましい。重合活性基を有する化合物としては抗生物質の望む位置で反応し、続いて実施する重合反応が効率良く進むものであればどのようなものであってもよい。開環メタセシス反応を用いる場合に好ましい化合物として、下記式(1)、

[0006]

[化1]



【0007】(式中、Xはメチレン基もしくは酸素原子を示す。Yは鎖中又は末端にヘテロ原子、不飽和結合あるいは環状構造が1個又は2個以上介在していてもよく、低級アルキル基で置換されていてもよい、炭素数2から12のポリメチレン鎖を表す。Zはアミノ基又はホルミル基を表す。)で表されるノルボルネン類及び7-オキサノルボルネン類を例示することができる。ヘテロ原子としては酸素原子、イオウ原子あるいは-NR- (Rは水素原子又は低級アルキル基を表す。)を挙げることができる。不飽和結合としては炭素炭素2重結合又は炭素炭素3重結合を例示できる。環状構造としては例えば、フェニレン基、ナフチレン基、シクロヘキシレン基、シクロペンチレン基、及びシクロプロピレン基等を例示することができる。低級アルキル基とは、炭素数1から6の直鎖状もしくは分枝状のアルキル基を意味し、その具体例としてメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基を挙げることができる。重合活性基を有する化合物を抗生物質に結合する方法はどのようなものでも良いが、抗生物質側に存在するアミン、カルボン酸、芳香環等を利用してアルキル化、アシル化

polymerization method, (Lynn, D. M., et al., Journal of the American Chemical Society (0002-7863, JACSAT), 1996, 118, 784). ring opening metathesis polymerization reaction adding according to need surfactant making use of solvent, emulsion, does suspension or solution with state. As solvent, methanol ethanol, propyl alcohol or other alcohols, acetone, methyl isobutyl ketone or other ketones, the diethyl ether, tetrahydrofuran or other ethers and dichloromethane or other halogenated hydrocarbon or these or mixed solvent of water can be listed. Especially, from point of antibiotic activity of oligomer which is acquired, it is desirable to do with solution state, it is desirable to do with alcohol solution and especially methanol solution. If it reacts at position where antibiotic you desire as compound which possesses polymerization activity basis and continuously it is something where the polymerization reaction which is executed advances efficiently, it is possible to be whichever kind of ones. As desirable compound when ring opening metathesis reaction is used, the below-mentioned Formula (1),

[0006]

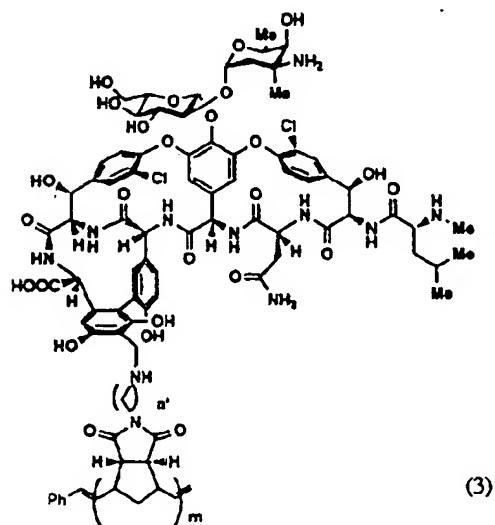
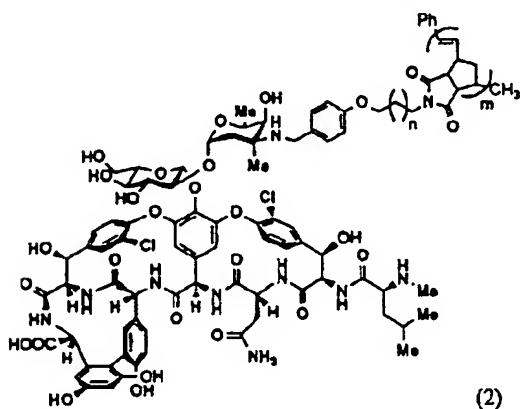
[Chemical Formula 1]

[0007] It is possible to illustrate norbornene and 7-oxa norbornene which are displayed with (In Formula, X shows methylene group or oxygen atom. Y has been allowed to have in between heteroatom, unsaturated bond or ring structure above 1 or 2 in or end chain, with lower alkyl group the polymethylene chain of optionally substitutable and carbon number 2 to 12 displays. Z displays amino group or formyl group.) oxygen atom, sulfur atom or -NR- (R displays hydrogen atom or lower alkyl group.) can be listed as heteroatom. carbon carbon double bond or carbon carbon triple bond can be illustrated as unsaturated bond. It is possible to illustrate for example phenylene group, naphthylene group, cyclohexylene group, the cyclopentylene group, and cyclopropylene basis etc as ring structure. lower alkyl group, carbon number 1 to 6 straight chain or branched alkyl group are meant, methyl group, ethyl group, the propyl group, isopropyl group, butyl group, isobutyl group, s-butyl group, pentyl group and the hexyl group can be listed as embodiment. But as for method which connects compound which possesses polymerization activity basis to antibiotic it is good, making use of amine, carboxylic acid and the aromatic ring etc which

反応等により導入することができる。例えば、重合活性基を有する化合物のホルミル基と抗生物質のアミノ基を還元的N-アルキル化によって結合する方法 (Cooper, R. D. G. ら J. Antibiot. 1996. 49. 575-581)、あるいは重合活性基を有する化合物のアミノ基と抗生物質の活性水素及びホルムアルデヒドの間でマンニッヒ型縮合反応を行なう方法 (Pavlov, A. Y. ら J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) 等を挙げることができる。本発明における抗菌性オリゴマーとしては具体的には、下記式 (2) 及び (3)、

[0008]

[化2]



exist on antibiotic side any kind of ones it can introduce due to alkylation and acylation reaction etc. formyl group of compound which possesses for example polymerization activity basis and method which connects amino group of antibiotic with reductive N - alkylation (Cooper , R. D. G. and others J. Antibiot. 1996.49.575-581), or amino group of the compound which possesses polymerization activity basis and active hydrogen of antibiotic and the method (Pavlov, A.Y. and others J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) etc which does Mannich type condensation reaction between formaldehyde can be listed. As antimicrobial oligomer in this invention concrete, below-mentioned Formula (2) and (3),

[0008]

[Chemical Formula 2]

【0009】（式中、 n は0から10までの整数、 n' は1から12までの整数、また m は2から60までの整数を表す。）で示される化合物を挙げることができる。本発明の上記オリゴマーは医薬として治療のために経口的あるいは非経口的に投与することができる。経口投与剤としては散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤などの固形製剤あるいはシロップ剤、エリキシル剤などの液状製剤とすることができる。また、非経口投与剤として注射剤、粘膜投与剤、外用剤とすることができる。これらの製剤は活性成分に薬理学的、製剤学的に認容される製造助剤を加えることにより常法に従って製造される。更に公知の技術により持続性製剤とすることも可能である。当該製造助剤を用いる場合は、本発明の製剤中の有効成分の配合量は通常は0.1～20重量%、好ましくは0.2～10重量%であるが、製剤形態によっては、50重量%程度まで配合することもできる。上記製造助剤として、内服用製剤（経口剤）、注射用製剤（注射剤）、粘膜投与剤（バツカル、トローチ、坐剤等）、外用剤（軟膏、貼付剤等）などの投与経路に応じた適当な製剤用成分が使用される。例えば、経口剤および粘膜投与剤にあつては、賦形剤（例：澱粉、乳糖、結晶セルロース、乳酸カルシウム、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、無水ケイ酸、マンニトール）、結合剤（例えばヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等）、崩壊剤（例：カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム）、滑沢剤（例：ステアリン酸マグネシウム、タルク）、コーティング剤（例：ヒドロキシエチルセルロース）、矯味剤などの製剤用成分が、また注射剤にあつては、水性注射剤を構成し得る溶解剤ないし溶解補助剤（例：注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール）、懸濁剤（例：ポリソルベート80などの界面活性剤）、pH調整剤（例：有機酸またはその金属塩）、安定剤などの製剤用成分が、さらに外用剤にあつては、水性ないし油性の溶解剤ないし溶解補助剤（例：アルコール、脂肪酸エステル類）、粘着剤（例：カルボキシビニルポリマー、多糖類）、乳化剤（例：界面活性剤）、安定剤などの製剤用成分が使用される。上記構成を有する本発明の医薬は、公知の製造法、例えば日本薬局方第10版製剤総則記載の方法ないし適当な改良を加えた方法によって製造することができる。本発明に係る有効成分の投与量は、成人を治療する場合で1～1000mgであり、これを1日2～3回に分けて投与することが好ましい。この投与量は、患者の年齢、体重および症状などによって増減することができる。以下、実施例及び試験例により詳細に説明する。

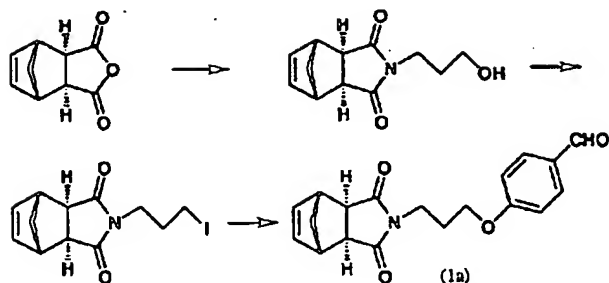
[0009] Compound which is shown with (In Formula, as for n integer to 0 to 10, as for then' integer to 1 to 12, in addition as for m integerto 60 is displayed from 2.) can be listed. It can prescribe to oral or parenteral above-mentioned oligomero of this invention because of treatment as pharmaceutical. It can make powder, granule, capsules, tablets or other solid preparation or syrup and elixir or other liquid state formulation as oral dosage agent. In addition, injectable and mucosa dosage agent, it can make the external preparation as parenteral administration agent. These formulation following to conventional method, by adding manufacturing aid which in the active ingredient is admitted in pharmacological and pharmaceutical it is produced. Furthermore also it is possible to make retention formulation, with known technology. When this said manufacturing aid is used, as for compounded amount of active ingredient in formulation of the this invention usually it is a 0.1 to 20 wt% and a preferably 0.2 to 10 wt% it is possible also to the 50 wt% extent, but depending upon formulation type, to combine. As above-mentioned manufacturing aid, formulation (oral drug) for oral administration, injection formulation (injectable) and the mucosa dosage agent (Such as buccal, lozenge and suppository), component for suitable formulation which responds to the external preparation (Such as ointment and tackifier) or other administration route is used. Being for example oral drug and mucosa dosage agent, excipient (Example: starch, lactose, crystalline cellulose, calcium lactate, magnesium metasilicate aluminate, anhydrous silicic acid and mannitol), binder (Such as for example hydroxypropyl cellulose and polyvinyl pyrrolidone), disintegrating agent (Example: carboxymethyl cellulose, calcium carboxymethyl cellulose), lubricant (Example: stearic acid magnesium, talc), coating agent (Example: hydroxyethyl cellulose), component for the flavoring or other formulation, in addition being an injectable, dissolver or solubilizer which can form aqueous injectable (Example: injectable distilled water, physiological saline and propylene glycol), suspension agent (Example: polysorbate 80 or other surfactant), pH adjustment agent (Example: organic acid or metal salt), component for the stabilizer or other formulation, furthermore being an external preparation, dissolver or solubilizer of aqueous or oily (Example: alcohol, fatty acid esters), adhesive (Example: carboxyvinyl polymer, polysaccharide), emulsifier (Example: surfactant), component for stabilizer or other formulation is used. It can produce pharmaceutical of this invention which possesses above-mentioned constitution, production method of public knowledge, with method which adds the method or suitable improvement which is stated in for example Pharmacopoeia Japonica 10th edition formulation general regulation. dose of active ingredient which relates to this invention is 1 to 1000 mg with when treatment it does adult, this is divided into 1 day 2 to 3 time and it is

[0010]

【実施例】実施例 1. ノルボルネン誘導体 (1a) の合成

[0011]

[化 3]



[0012] 窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5,6-エキソジカルボン酸無水物 (50 mg、0.3 mmol) をトルエン (1.5 mL) に溶解し、3-アミノ-1-プロパノール (0.7 mL) を加え、14 時間加熱還流した。室温に降温した後、飽和塩化アンモニウム水溶液 (5 mL)、酢酸エチル (5 mL) を加え分配した。有機層を分取し、水層を酢酸エチル (2 mL x 2) で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 2.5 g、ヘキサン/酢酸エチル 1/1) で精製して無色油状のアルコール体 (63 mg、95%) を得た。得られたアルコール体 (41 mg、0.19 mmol) を窒素雰囲気下、トルエン (1.3 mL) に溶解し 0°C に降温した。イミダゾール (33 mg、2.5 eq)、トリフェニルホスフィン (130 mg、2.5 eq)、ヨウ素 (100 mg、2 eq) を順に加え、徐々に室温に昇温しながら 2 時間攪拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液 (5 mL) を加え反応を停止した。これを酢酸エチル (5 mL x 2) で抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 10 g、ヘキサン/酢酸エチル 8/1→4/1) で精製して無色固体のヨウ化物 (57 mg、94%) を得た。上記ヨウ化物 (279 mg、0.84 mmol) とパラヒドロキシベンズアルデヒド (116 mg、1.1 eq) を窒素雰囲気下、エタノール (5.6 mL) に溶解した。炭酸カリウム (156 mg、1.3 eq) を加え 23 時間加熱還流した。水 (10 mL)、飽和塩化アンモニウム水溶液 (10 mL) を加え反応を停止した。反応混合物を酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出し、合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。これを減圧

desirable to prescribe. It can increase and decrease this dose, of patient, with the body weight and disease etc. You explain in detail below, with Working Example and Test Example.

[0010]

[Working Example(s)] Synthesis of Working Example 1. norbornene derivative (1a)

[0011]

[Chemical Formula 3]

[0012] Under nitrogen atmosphere, it melted cis-norbornene-5,6-exo-dicarboxylic acid anhydride (50 mg and 0.3 mmol) in toluene (1.5 mL), 14 hours heating and refluxing it did including 3-amino-1-propanol (0.7 mL). It distributed cooling after doing, including saturated ammonium chloride aqueous solution (5 mL) and the ethyl acetate (5 mL) in room temperature. organic layer fraction collection was done, water layer was extracted with ethyl acetate (2 mL x 2). It adjusted organic layer, washed with saturated saline, dried on anhydrous sodium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 2.5 g and hexane / ethyl acetate 1/1), it acquired alcohol (63 mg and 95%) of colorless oily. under nitrogen atmosphere, it melted alcohol (41 mg and 0.19 mmol) which is acquired in the toluene (1.3 mL) and cooling did in 0°C imidazole (33 mg and 2.5 eq), triphenylphosphine (130 mg and 2.5 eq), iodine (100 mg and 2 eq) in addition to order, while the temperature rise doing gradually in room temperature, 2 hours it agitated. Reaction was stopped including saturated aqueous sodium sulfite solution (5 mL). It extracted this with ethyl acetate (5 mL x 2), it washed organic layer which is acquired with saturated saline, dried on anhydrous sodium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 10 g and hexane / ethyl acetate 8/1→4/1), it acquired iodide (57 mg and 94%) of colorless solid. Above-mentioned iodide (279 mg and 0.84 mmol) with para hydroxy benzaldehyde (116 mg and 1.1 eq), under nitrogen atmosphere, was melted in ethanol (5.6 mL). 23 hours heating and refluxing it did including potassium carbonate (156 mg and 1.3 eq). Reaction was

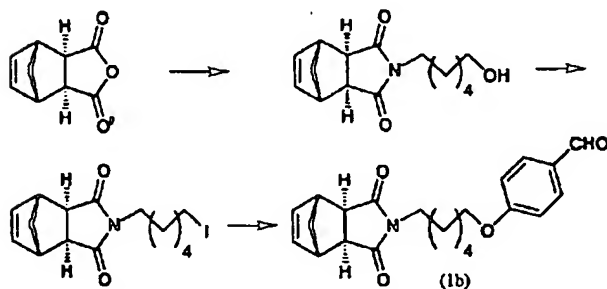
濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 20 g、ヘキサン/酢酸エチル 4/1→3/1→0/1）で精製して無色油状のノルボルネン誘導体（1a、289 mg）を定量的に得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 1.23 (1H, d, J = 9.9 Hz), 1.52 (1H, d, J = 9.9 Hz), 2.10 (2H, m), 2.68 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.69 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.06 (2H, t, J = 6.2 Hz), 6.28 (2H, s), 6.97 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.82 (2H, J = 7.0 Hz), 9.87 (1H, s).

【0013】実施例2. ノルボルネン誘導体（1b）の合成

【0014】

【化4】



【0015】窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5,6-エキソジカルボン酸無水物（1.0 g、6.1 mmol）をトルエン（20 mL）に溶解し、6-アミノ-1-ヘキサノール（2.1 g）を加え、12時間加熱還流した。室温に降温した後、飽和塩化アンモニウム水溶液（30 mL）、酢酸エチル（10 mL）を加え分配した。有機層を分取し、水層を酢酸エチル（5 mL x 2）で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 40 g、ヘキサン/酢酸エチル 1/1）で精製して無色油状のアルコール体（1.6 g、97%）を得た。得られたアルコール体（1.0 g、3.8 mmol）を窒素雰囲気下、トルエン（60 mL）に溶解し0°Cに降温した。イミダゾール（655 mg）、トリフェニルホスフィン（2.5 g）、ヨウ素（2.0 g）を順に加え、徐々に室温に昇温しながら10時間撹拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液（80 mL）を加え反応を停止した。これを酢酸エチル（20 mL x 2）で抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これ

stopped water (10 ml), including saturated ammonium chloride aqueous solution (10 ml). It extracted reaction mixture with ethyl acetate (10 ml x 2), it washed organic layer which is adjusted with saturated saline, dried on anhydrous magnesium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 20 g and hexane / ethyl acetate 4/1 3/1 0/1), it acquired norbornene derivative (1a and 289 mg) of colorless oily in quantitative.

¹H-nmr (400 MHz, CDCl₃) : 1.23 (1H, d, J = 9.9 Hz), 1.52 (1H, d, J = 9.9 Hz), 2.10 (2H, m), 2.68 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.69 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.06 (2H, t, J = 6.2 Hz), 6.28 (2H, s), 6.97 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.82 (2H, J = 7.0 Hz), 9.87 (1H, s).

[0013] Synthesis of Working Example 2. norbornene derivative (1b)

[0014]

[Chemical Formula 4]

[0015] Under nitrogen atmosphere, it melted cis-norbornene-5,6-exo-dicarboxylic acid anhydride (1.0 g and 6.1 mmol) in toluene (20 ml), 12 hours heating and refluxing it including 6-amino-1-hexanol (2.1 g). It distributed cooling after doing, including saturated ammonium chloride aqueous solution (30 ml) and the ethyl acetate (10 ml) in room temperature. organic layer fraction collection was done, water layer was extracted with ethyl acetate (5 ml x 2). It adjusted organic layer, washed with saturated saline, dried on anhydrous sodium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 40 g and hexane / ethyl acetate 1/1), it acquired alcohol (1.6 g and 97%) of colorless oily. under nitrogen atmosphere, it melted alcohol (1.0 g and 3.8 mmol) which is acquired in the toluene (60 ml) and cooling down in 0 °C. imidazole (655 mg), triphenylphosphine (2.5 g) and iodine (2.0 g) in addition to order, while the temperature rise doing gradually in room temperature, 10 hours it agitated. Reaction was stopped including saturated aqueous sodium sulfi

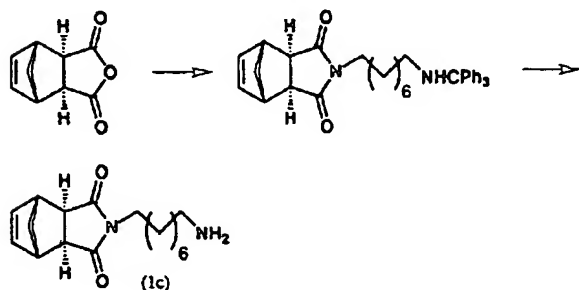
を減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 60 g、ヘキサン/酢酸エチル 4/1）で精製して無色固体のヨウ化物（1.1 g、76%）を得た。上記ヨウ化物（778 mg、2.1 mmol）とパラヒドロキシベンズアルデヒド（315 mg、1.2 eq）を、窒素雰囲気下、エタノール（15 mL）に溶解した。炭酸カリウム（398 mg、1.4 eq）を加え 17 時間加熱還流した。水（20 mL）、飽和塩化アンモニウム水溶液（40 mL）を加え反応を停止した。反応混合物を酢酸エチル（30 mL x 2）で抽出し、合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 50 g、ヘキサン/酢酸エチル 3/1→1/1）で精製して無色油状のノルボルネン誘導体（1b、763 mg）を定量的に得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 1.23 (1H, br. d, J = 9.2 Hz), 1.32-1.64 (7H, complex), 1.81 (2H, m), 2.67 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.48 (2H, t, J = 7.5 Hz), 4.03 (2H, t, J = 6.4 Hz), 6.98 (2H, s), 6.98 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.83 (2H, J = 8.8 Hz), 9.88 (1H, s).

実施例 3. ノルボルネン誘導体（1c）の合成

[0016]

[化 5]



[0017] 窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5,6-ジカルボン酸無水物（633 mg、3.86 mmol）をトルエン（15 mL）に溶解し、N-トリチル-1,8-ジアミノオクタン（736 mg）を加え、5 時間加熱還流した。室温に降温した後、減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 25 g、ヘキサン/酢酸エチル 5/1）で精製して無色油状のN-トリチルアミン（611 mg、60%）を得た。得られたN-トリチルアミン（563 mg、1.1 mmol）を塩化メチレン（10 mL）に溶解し、0℃でトリフルオロ酢酸（0.3 mL）を加え 15

minutes (80 mL). It extracted this with ethyl acetate (20 mL x 2), it washed organic layer which is acquired with saturated saline, dried on anhydrous sodium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 60 g and hexane / ethyl acetate 4/1), it acquired iodide (1.1 g and 76%) of colorless solid. Above-mentioned iodide (778 mg and 2.1 mmol) with para hydroxy benzaldehyde (315 mg, 1.2 eq), under nitrogen atmosphere, was melted in ethanol (15 mL). 17 hours heating and refluxing it did including potassium carbonate (398 mg and 1.4 eq). Reaction was stopped water (20 mL), including saturated ammonium chloride aqueous solution (40 mL). It extracted reaction mixture with ethyl acetate (30 mL x 2), it washed organic layer which is adjusted with saturated saline, dried on anhydrous magnesium sulfate. vacuum concentration it did this and refining residue which is acquired with the column chromatography (silica gel 50 g and hexane / ethyl acetate 3/1 1/1), it acquired norbornene derivative (1b and 763 mg) of colorless oily in quantitative.

¹H-nmr (400 MHz, CDCl₃) : 1.23 (1H, br. d, J = 9.2 Hz), 1.32-1.64 (7H, complex), 1.81 (2H, m), 2.67 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.48 (2H, t, J = 7.5 Hz), 4.03 (2H, t, J = 6.4 Hz), 6.98 (2H, s), 6.98 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.83 (2H, J = 8.8 Hz), 9.88 (1H, s).

Synthesis of Working Example 3. norbornene derivative (1c)

[0016]

[Chemical Formula 5]

[0017] Under nitrogen atmosphere, it melted cis-norbornene-5,6-exo-dicarboxylic acid anhydride (633 mg and 3.86 mmol) in toluene (15 mL), 5 hours heating and refluxing it did including N-trityl-1,8-diaminooctane (736 mg). cooling after doing, vacuum concentration it did in room temperature and refining the residue which is acquired with column chromatography (silica gel 25 g and hexane / ethyl acetate 5/1), it acquired N-tritylamine (611 mg and 60%) of the colorless oily. it melted N-tritylamine (563 mg and 1.1 mmol) which is acquired in methylene chloride (10 mL),

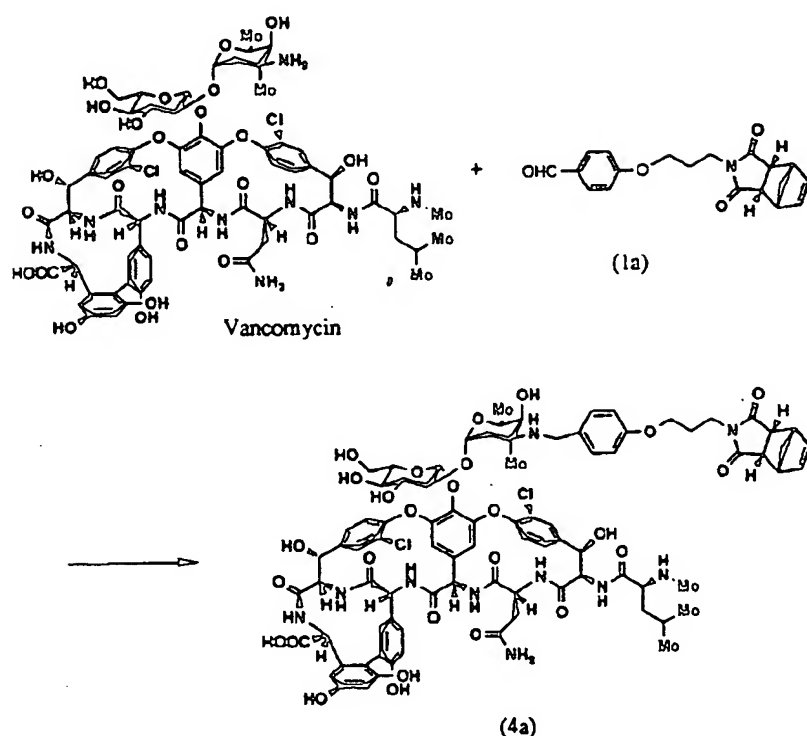
分間撹拌した。室温に昇温し、さらに20分間撹拌を続けた後、反応混合物を減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル 30 g、1% トリエチルアミン含有クロロホルム/メタノール 1/0→5/1）で精製して油状のノルボルネン誘導体（1c、307 mg）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 1.20-1.69 (14H, complex), 2.67 (2H, d, J = 0.7 Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.7 Hz), 3.26 (2H, s), 3.43 (2H, t, J = 7.5 Hz), 6.28 (2H, t, J = 1.6 Hz).

実施例4. モノマー（4a）の合成

[0018]

[化6]



【0019】アルゴン雰囲気下、室温でノルボルネン誘導体（1a、131 mg）とバンコマイシン（vancomycin）塩酸塩（504mg、0.34 mmol）をメタノール（10 mL）に溶解した。N,N-ジイソプロピルエチルアミン（0.13 mL）を加え70℃に昇温し2時間撹拌した。シアノ水素化ホウ素ナトリウム（25 mg）を加え、同温で10時間撹拌を続けた。N,N-ジメチルホルムアミド（2 mL）を加え、さらに10時間撹拌した。室温でメタノール（5 mL）を加え反応を停止し、これを減圧濃縮して得られた残渣を、カラムクロマトグラフィー（コスモシル75C18-

the 15 min it agitated with 0 °C including trifluoroacetic acid (0.3 ml). temperature rise it did in room temperature, furthermore after continuing 20 min churning, vacuum concentration it did reaction mixture. refining residue which is acquired with column chromatography (silica gel 30 g and 1% triethylamine content chloroform / methanol 1/0 5/1), it acquired norbornene derivative (1c and 307 mg) of oily.

¹H-nmr (400 MHz, CDCl₃) : 1.20-1.69 (14H, complex), 2.67 (2H, d, J = 0.7 Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.7 Hz), 3.26 (2H, s), 3.43 (2H, t, J = 7.5 Hz), 6.28 (2H, t, J = 1.6 Hz).

Synthesis of Working Example 4. monomer (4a)

[0018]

[Chemical Formula 6]

[0019] Under argon atmosphere, norbornene derivative (1a and 131 mg) with vancomycin (vancomycin) acetate (504 mg and 0.34 mmol) was melted in the methanol (10 ml) with room temperature. temperature rise it did in 70 °C including N,N-diisopropylethylamine (0.13 ml) and 2 hours agitated. Including sodium cyanoborohydride (25 mg), 10 hours churning was continued with same temperature. Including N,N-dimethylformamide (2 ml), furthermore 10 hours it agitated. It stopped reaction with room temperature including methanol (5 ml), vacuum concentration did this and it refined residue which i

OPN 50 g, 1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/2) で精製し、無色固体のモノマー(4a, 188 mg, 30%)を得た。得られたモノマーの¹H-NMRスペクトルを図1に示す。

acquired, with column chromatography (Cosmosil 75C18-OPN 50 g and 1% TFA content CH₃CN/ H₂O 1/2), acquired monomer (4a, 188 mg and 30%) of colorless solid. ¹H-nmr spectrum of monomer which is acquired is shown in the Figure 1

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1757 [M+H]⁺, 1304, 1143, 617.

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1757 [M+H]⁺, 1304, 1143, 617.

実施例5. モノマー(4b)の合成

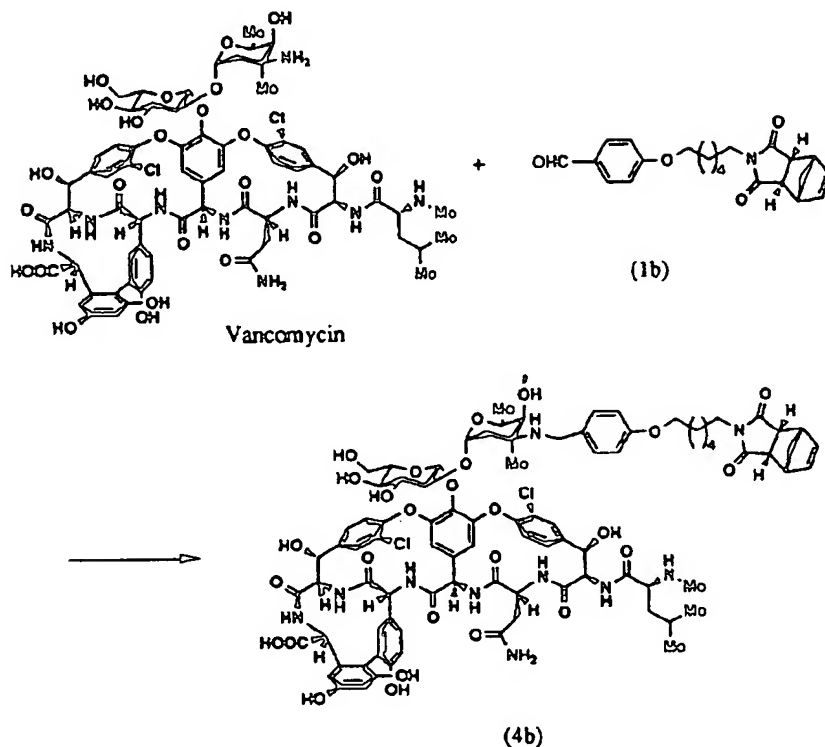
Synthesis of Working Example 5. monomer (4b)

[0020]

[0020]

[化7]

[Chemical Formula 7]



[0021] アルゴン雰囲気下、室温でノルボルネン誘導体(1b, 101 mg)とバンコマイシン塩酸塩(375 mg, 0.25 mmol)をメタノール(8 mL)に溶解した。N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.092 mL)を加え70℃に昇温し2時間撹拌した。シアノ水素化ホウ素ナトリウム(19 mg)を加え、同温で14時間撹拌を続けた。室温でメタノール(3 mL)を加え反応を停止し、これを減圧濃縮し得られた残渣を、カラムクロマトグラフィー(コスモシル75C18-OPN 40 g, 1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/3→1/2→1/1)で精製し、無色固体のモノマー(4b, 161 mg, 36%)を得た。得られたモノマーの¹H-NMRスペクトルを図2に示す。

[0021] Under argon atmosphere, norbornene derivative (1b and 101 mg) with vancomycin acetate (375 mg and 0.25 mmol) was melted in the methanol (8 ml) with room temperature. temperature rise it did in 70 °C including N,N-diisopropylethylamine (0.092 ml) and 2 hours agitated. Including sodium cyanoborohydride (19 mg), 14 hours churning was continued with same temperature. It stopped reaction with room temperature including methanol (3 ml), vacuum concentration and this and it refined residue which is acquired, with column chromatography (Cosmosil 75C18-OPN 40 g and 1% TFA content CH₃CN/ H₂O 1/3 1/2 1/1), acquired monomer (4b, 161 mg and 36%) of colorless

solid. ^1H -nmr spectrum of monomer which is acquired is shown in the Figure 2.

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1799 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1799 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

実施例6. モノマー (4c) の合成

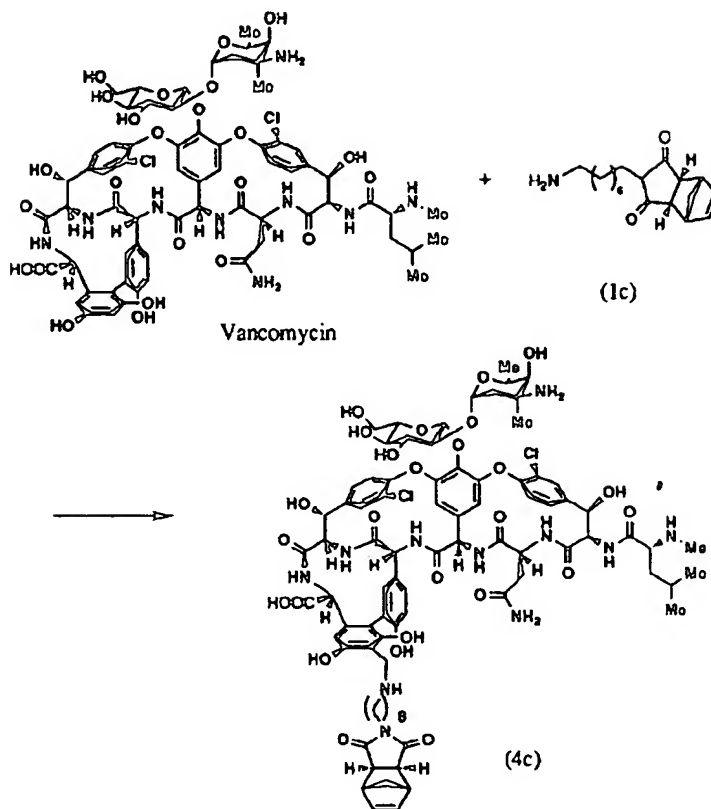
Synthesis of Working Example 6. monomer (4c)

[0022]

[0022]

[化8]

[Chemical Formula 8]



[0023] 30%ホルムアルデヒド水溶液 (19 mg) をアセトニトリル (0.5 mL) と水 (0.5 mL) の混合溶媒に溶解し、室温でノルボルネン誘導体 (1c、98 mg、10 eq) を加えた。この混合溶液を 0°C に冷却し、バンコマイシン塩酸塩 (50 mg、0.033 mmol) を加え、同温で 12.5 時間攪拌した。5 M 塩酸を加えて、系内を約 pH 4 とした。反応混合物にアセトン (9 mL) を加えて析出した固体を遠心分離し、カラムクロマトグラフィー (コスモシル75C18-OPN 30 g、1% TFA 含有 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/4) で精製し、無色固体のモノマー (4c、30 mg、49%) を得た。 ^1H -NMR スペクトルにおいて、バンコマイシン、モノマー (4a) 及び (4b) では 6.4 ppm 付近に 2 本の二重線シグナルとして観測されるレゾルシノール環の 2 個のプロトンが、プロトン 1 個分の一重線 1

[0023] 30% formaldehyde aqueous solution (19 mg) was melted in mixed solvent of acetonitrile (0.5 mL) and water (0.5 mL), then norbornene derivative (1c, 98 mg and 10 eq) was added with room temperature. It cooled this mixed solution in 0°C , 12.5 hours it agitated with the same temperature including vancomycin hydrochloride (50 mg and 0.033 mmol). Including 5M hydrochloric acid, inside of system was designated as approximately pH 4. centrifugal separation it did solid which was precipitated including acetone (9 mL) in reaction mixture, refined with column chromatography (Cosmosil 75C18-OPN 30 g, and 1% TFA content $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/4), acquired monomer (4c, 30 mg and 49%) of the colorless solid. In ^1H -nmr spectrum, with vancomycin, monomer (4a) and (4b) proton of the 2 of resorcinol ring which is observed to 6.4 ppm

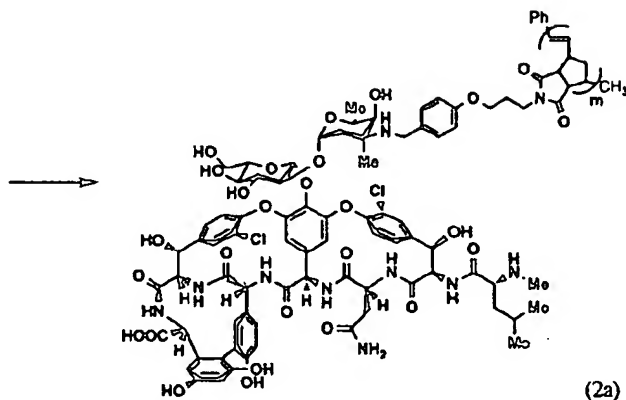
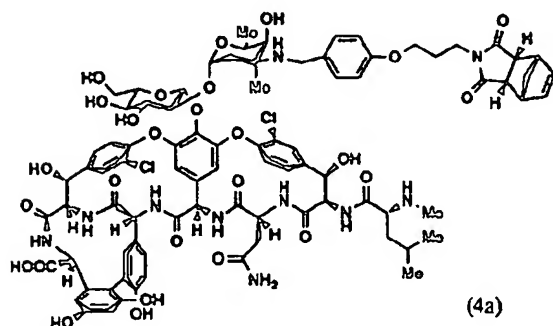
本になっていること、並びに関連化合物に関する報告 (Pavlov, A.Y. ら J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) から、上記のモノマー (4c) の構造を確認した。¹H-NMRスペクトルを図3に示す。

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1750 [M+H]⁺

実施例7. オリゴマー (2a) の合成

[0024]

[化9]



[0025] アルゴン雰囲気下、実施例4で得たモノマー (4a, 16 mg, 0.0087 mmol) をメタノール (100 μ L) に溶解し、ビス (トリシクロヘキシルホスフィン) ベンジリデンルテニウム (IV) ニ塩化物 (グラブス (Grubbs) 触媒, 2 mg, 16 mol%) の1, 2-ジクロロエタン溶液 (50 μ L) を滴下した。35分後、メタノール (100 μ L) を加え攪拌した。さらに、メタノール (100 μ L)、水 (100 μ L) を加え攪拌し、42時間後エチルビニルエーテル (0.1 mL) を加え2時間攪拌した。メタノール (2 mL) を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (コスモシル 10 g, 1% TFA 含有CH₃CN/H₂O 1/3→1/1) で精製しオリゴマー (2a

vicinity as doubleline signal of 2, has become single line 1 of proton 1 amount, and from report (Pavlov, A.Y. and others J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) regarding related compound, structure of the above-mentioned monomer (4c) was verified. ¹H-nmr spectrum is shown in Figure 3.

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1750 [M+H]⁺

Synthesis of Working Example 7. oligomer (2a)

[0024]

[Chemical Formula 9]

[0025] Under argon atmosphere, monomer (4a, 16 mg and 0.0087 mmol) which is acquired with Working Example 4 was melted in methanol (100 μ L), 1,2-dichloroethane solution (50 μ L) of bis (tricyclohexyl phosphine) benzilidene ruthenium (IV) dihalide (Grubbs catalyst, 2 mg and 16 mol %) was dripped. It agitated after 35 min, including methanol (100 μ L). Furthermore, it agitated including methanol (100 μ L) and water (100 μ L), the 2 hours it agitated including ethyl vinyl ether (0.1 mL) after 42 hours. methanol (2 mL) was added. vacuum concentration it did this and it refined residue which is acquired with the column chromatography (Cosmosil 10 g and 1% TFA content CH₃

、分子量分布 3k~70k、9.6 mg) を無色固体として得た。得られたオリゴマーの¹H-NMRスペクトルを図4に示す。

CN/ H₂O 1/3 1/1) and it acquired oligomer (2a, molecular weight distribution 3k to 70k and 9.6 mg) as colorless solid. ¹H-nmr spectrum of oligomer which is acquired is shown in the Figure 4.

実施例8. オリゴマー (2b) の合成

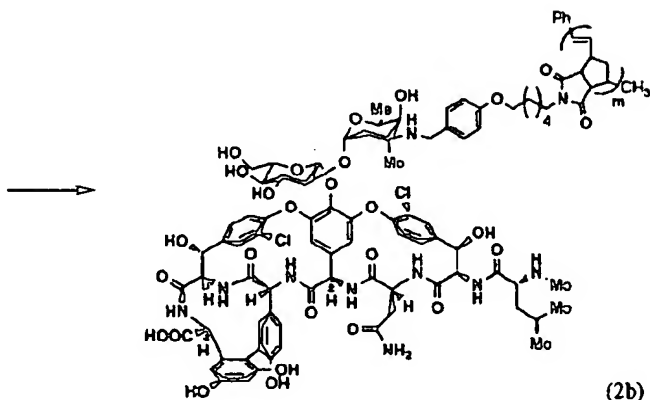
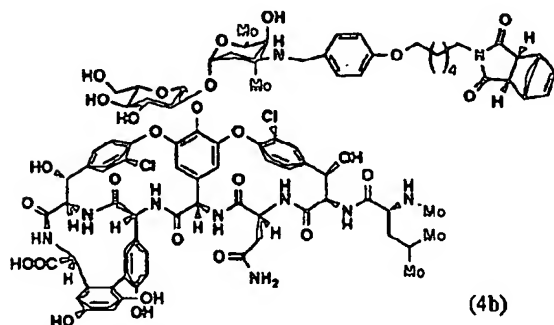
Synthesis of Working Example 8. oligomer (2b)

[0026]

[0026]

[化10]

[Chemical Formula 10]



[0027] アルゴン雰囲気下、実施例5で得たモノマー (4b、49 mg、0.026 mmol) をメタノール (300 μ L) に溶解しグラブス触媒 (2.2 mg、10 mol%) の1, 2-ジクロロエタン溶液 (150 μ L) を滴下し45時間撹拌した後エチルビニルエーテル (0.1 mL) を加え3.5時間撹拌した。メタノール (2 mL) を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (コスモシール 30 g、1%TFA含有CH₃CN/H₂O 1/2→1/1) で精製しオリゴマー (2b、分子量分布 3k~70k、7 mg) を無色固体として得た。得られたオリゴマーの¹H-NMRスペクトルを図5に示す。

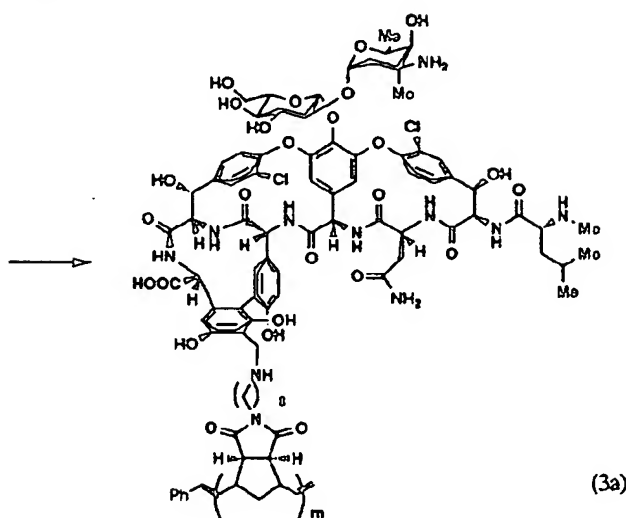
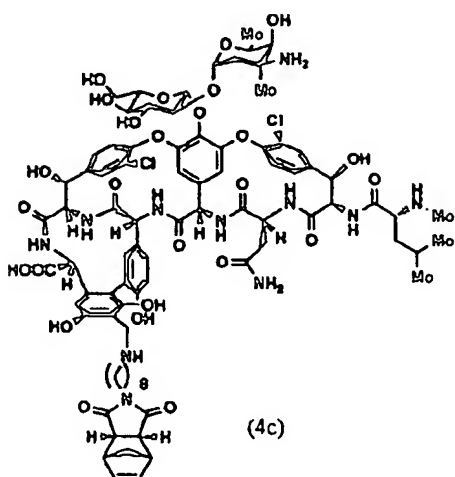
[0027] Under argon atmosphere, it melted monomer (4b, 49 mg and 0.026 mmol) which is acquired with the Working Example 5 in methanol (300 μ L) and dripped 1,2-dichloroethane solution (150 μ L) of g_s catalyst (2.2 mg and 10 mol %) and the 3.5 hours it agitated 45 hours after agitating, including ethyl vinyl ether (0.1 mL). methanol (2 mL) was added. vacuum concentration it did this and it refined residue which is acquired with the column chromatography (Cosmosil 30 g and 1%TFA content CH₃CN/ H₂O 1/2 1/1) and it acquired oligomer (2b, molecular weight distribution 3k to 70k and 7 mg) as colorless solid. ¹H-nmr spectrum of oligomer which is acquired is shown in the Figure 5.

実施例9. オリゴマー (3a) の合成

Synthesis of Working Example 9. oligomer (3a)

[0028]

[化 11]



[0029] アルゴン雰囲気下、ドデシルテトラメチルアンモニウムブロミド (8 mg, 1.6eq)、実施例6で得たモノマー (4c, 29 mg, 0.017 mmol) を水 (100 μ L) に溶解した。この混合物に室温で攪拌しながらグラブス触媒 (1.3 mg, 35 mol%) の1, 2-ジクロロエタン溶液 (50 μ L) を滴下した。12時間後、グラブス触媒 (1.7 mg, 45 mol%) を1, 2-ジクロロエタン (50 μ L) 溶液として追加しさらに同温で26時間攪拌した。エチルビニルエーテル (0.1 mL) を加えた後65°Cに昇温し、3時間攪拌した。メタノール (2 mL)、水 (2 mL)、アセトニトリル (2 mL) を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣を、カラムクロマトグラフィー (コスモシール 50 g, 1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/2) で精製し、オリゴマー (3a, 分子重量分布 3k~100k, 9.7 mg, 33%) を無色固体として得た。得られたオリゴマーの¹H-NMRスペクトルを図6に示す。

[0029] Under argon atmosphere, monomer (4c, 29 mg and 0.017 mmol) which is acquired with dodecyl tetramethyl ammonium bromide (8 mg, 1.6eq) and the Working Example 6 was melted in water (100 μ L). While to this blend agitating with room temperature, it dripped 1,2-dichloroethane solution (50 μ L) of the glove catalyst (1.3 mg and 35 mol %). After 12 hours, it added glove catalyst (1.7 mg and 45 mol %) furthermore 26 hours agitated with same temperature as 1,2-dichloroethane (50 μ L) solution and. After adding ethyl vinyl ether (0.1 mL), temperature rise it did in 65 °C, 3 hours agitated. methanol (2 mL) and water (2 mL), acetonitrile (2 mL) was added. vacuum concentration it did this and it refined residue which is acquired, with the column chromatography (Cosmosil 50 g and 1% TFA content CH₃CN/H₂O 1/2), it acquired oligomer (3a, molecular weight distribution 3k to 100k, 9.7 mg and 33%) as colorless solid.

試験例 1

抗菌試験を日本化学療法学会 MIC測定法改訂委員会による日本化学療法学会標準法に準拠した方法によって実施した。最小発育阻止濃度 (MIC) 測定については同測定法再改訂に関する報告 (Chemotherapy, 1981, 29, 76) に従った。結果を表 1 に示す。

[0030]

[表 1]

表 1. 抗菌試験結果

試料	MIC (μ g/mL)			
	<i>S. aureus</i> ^a	<i>Enterococcus</i> ^b	VRE (Van A) ^c	VRE (Van B) ^d
バンコマイシン	0.2	< 0.5	> 250	128
2a	2.3	2	31	2
2b	—	—	31	3.9

a MRSAを含む6種の白色ブドウ状球菌の平均

b *Enterococcus faecalis*

c JCB40

d RV1

[0031]

【発明の効果】本発明は細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌やメチシリン耐性黄色ブドウ状球菌に対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマーに関するものであり、耐性菌に対する抗菌剤、除菌剤としての用途を有する。

【図面の簡単な説明】

【図1】モノマー (4a) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

【図2】モノマー (4b) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

¹H-nmr spectrum of oligomer which is acquired is shown in the Figure 6.

Test Example 1

Antimicrobial test was executed with method which conforms to Japan Society of Chemotherapy standard method due to Japan Society of Chemotherapy MIC measurement method revision committee. You followed report (Chemotherapy, 1981, 29, 76) regarding same measurement method re-revision concerning minimum growth-inhibiting concentration (MIC) measurement. result is shown in Table 1.

[0030]

[Table 1]

[0031]

[Effects of the Invention] This invention bacteria and especially gram positive bacteria, vis-a-vis vancomycin resistance Enterococcus and the methicillin resistance Staphylococcus aureus is superior is something regarding novel antimicrobial oligomer which possesses the antibacterial action which even among them, it possesses application as antibiotic and disinfectant for resistant fungi.

[Brief Explanation of the Drawing(s)]

[Figure 1] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum (400 MHz, CD₃OD) of monomer (4a).

[Figure 2] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum (400 MHz, CD₃OD) of monomer (4b).

【図3】 モノマー (4c) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

[Figure 3] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum spectrum (400 MHz, CD₃OD) of monomer (4c).

【図4】 オリゴマー (2a) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

[Figure 4] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum spectrum (400 MHz, CD₃OD) of oligomer (2a).

【図5】 オリゴマー (2b) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

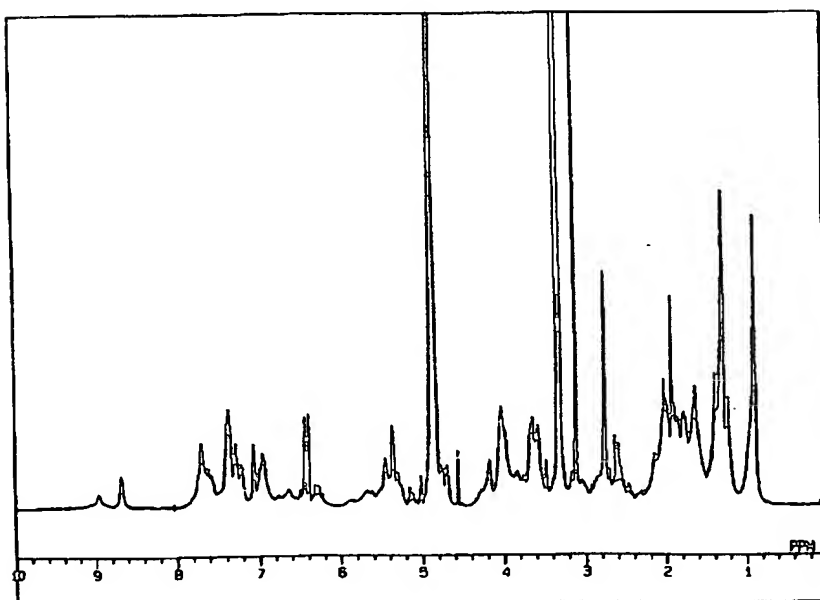
[Figure 5] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum spectrum (400 MHz, CD₃OD) of oligomer (2b).

【図6】 オリゴマー (3a) の¹H-NMRスペクトル (400 MHz, CD₃OD) を示す図である。

[Figure 6] It is a figure which shows ¹H-nmr spectrum spectrum (400 MHz, CD₃OD) of oligomer (3a).

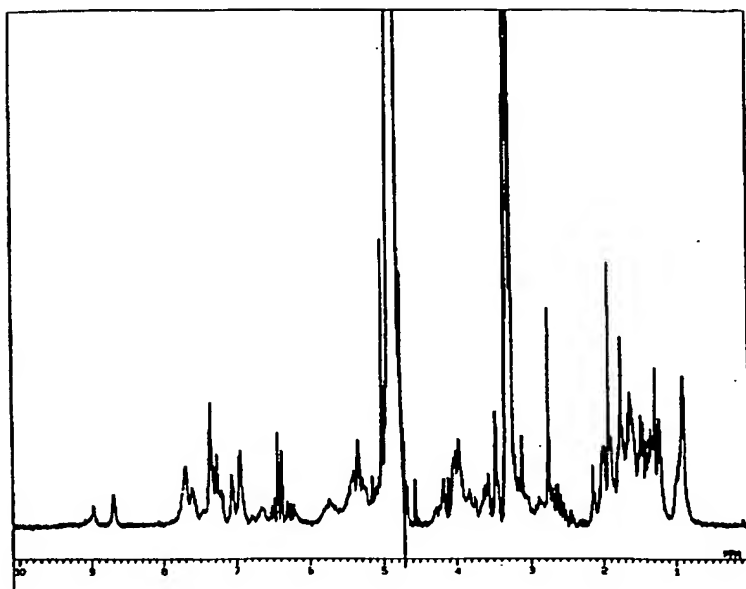
【図1】

[Figure 1]



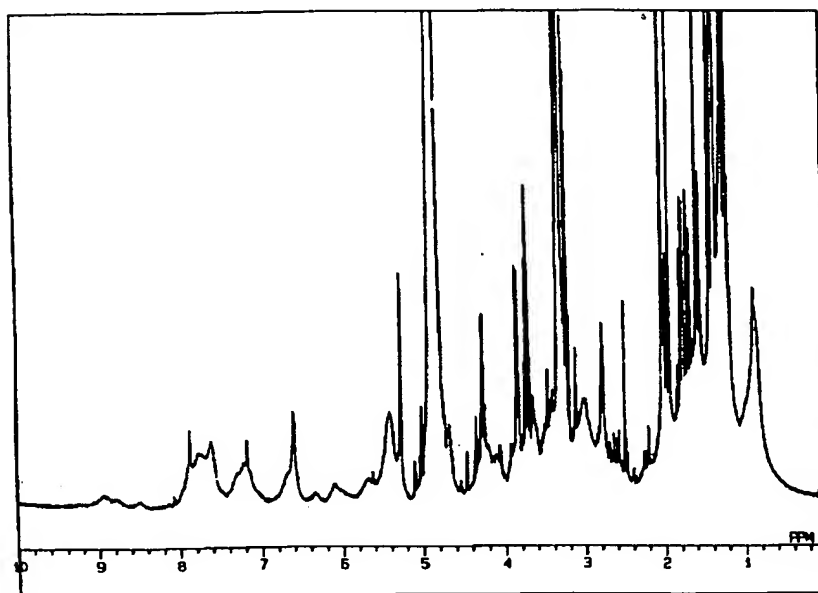
【図 2】

[Figure 2]



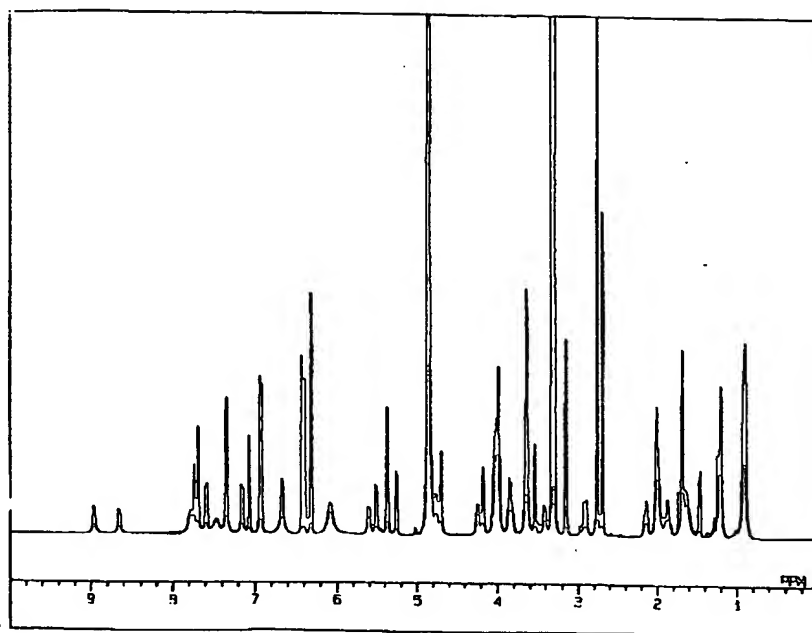
【図 3】

[Figure 3]



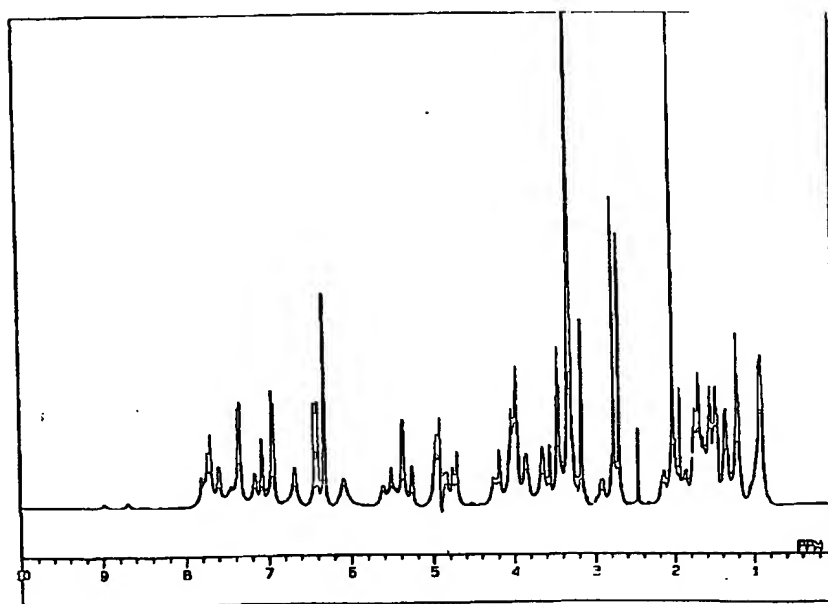
【図4】

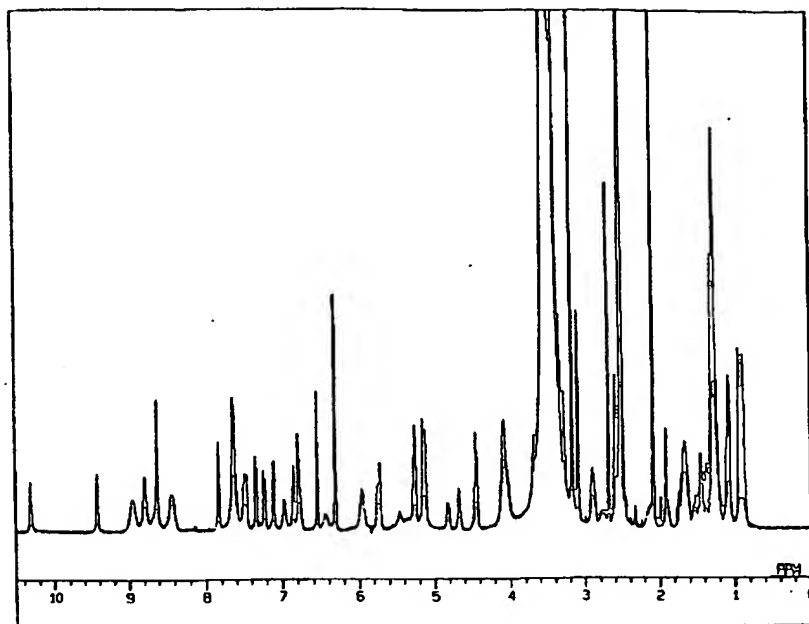
[Figure 4]



【図5】

[Figure 5]





【図6】

[Figure 6]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2000-302687
(P2000-302687A)

(43) 公開日 平成12年10月31日 (2000. 10. 31)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
A 6 1 K 31/785		A 6 1 K 31/785	4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/04		31/00	6 3 1 C 4 J 0 3 2
C 0 8 G 61/08		C 0 8 G 61/08	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願平11-114633

(22) 出願日 平成11年4月22日 (1999. 4. 22)

(71) 出願人 000173762

財団法人相模中央化学研究所
神奈川県相模原市西大沼4丁目4番1号

(72) 発明者 上村 大輔

愛知県名古屋市中千種区北千種1-6-32

(72) 発明者 有本 博一

静岡県清水市折戸1-20-7

(72) 発明者 山田 薫

東京都世田谷区成城3-10-33

(72) 発明者 矢澤 一良

神奈川県藤沢市鵠沼松が岡3-19-9

Fターム (参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 FA03 MA01

MA04 NA14 ZB35

4J032 CA14 CA34

(54) 【発明の名称】 抗菌性オリゴマー及び抗菌剤

(57) 【要約】

【課題】 細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) やメチシリン耐性黄色ブドウ状球菌 (MRSA) に対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマー及び抗菌剤を提供する。

【解決手段】 抗生物質の化学構造を各繰り返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2~30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー。

【効果】 上記抗菌性オリゴマーはグラム陽性菌、特にバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) やメチシリン耐性黄色ブドウ状球菌 (MRSA) に対して優れた抗菌作用を持ち、例えば、抗菌剤、除菌剤等の医薬としての用途を有する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗生物質の化学構造を各繰返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2〜30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー。

【請求項2】 抗生物質が、バンコマイシン、テイコプラニン、リストセチンA、又はエレモマイシンである、請求項1に記載の抗菌性オリゴマー。

【請求項3】 抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌剤であって、抗生物質の化学構造を各繰返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2〜30の範囲であるオリゴマーを有効成分とする抗菌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対して抗菌作用を持つ新規抗菌性オリゴマー及び該オリゴマーを有効成分とする抗菌剤に関する。

【0002】

【従来の技術】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）は半合成ペニシリンであるメチシリンの使用開始1年後の1961年に英国で見出された後世界各地に広がり、我が国でも1982年以降、時に致命的となる院内感染の原因菌として大きな問題となっている。バンコマイシンはグリコペプチド系抗生物質の一つで、MRSA感染症に有効な唯一の薬剤として汎用されているが、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が日本、米国で報告されたのに続いて、最近では米国でバンコマイシン耐性MRSAの出現を示唆する報告が相次いでいる。また、腸内でVREと接触することによりMRSAがバンコマイシン耐性形質を獲得するとの研究報告もあり、バンコマイシン耐性菌に対する対策が急務となっている。バンコマイシンの抗菌作用は菌の細胞壁に存在するペプチドグリカン前駆体の-D-Ala-D-Ala-部分に結合し、細胞壁合成を阻害することによる。また、VREでは同前駆体の-D-Ala-D-Ala-部分が-D-Ala-D-Lac-に変換されており、バンコマイシンの結合が弱くなっているとされる。一方、ある受容体に対応するリガンド構造を各繰返し単位の側鎖に持つ高分子重合体とその受容体に対して有効なアゴニストまたはアンタゴニストとして働くとの報告があり、リガンドとして各種糖鎖、チミン、ペニシリン等を導入した例がある（Kiessling, L. L. and Pohl, N. L., *Chemistry & Biology*, 1996, 3, 71, Gibson, V. C., et al., *Chem. Comm.*, 1997, 1095, Biagini, S. C. G., et al., *ibid.*, 1997, 1097.）。しかしながら、より複雑な天然分子またはペプチドをリガンド構造として重合体に導入した例は知られておらず、さらにその重合体が、用いたリガンド抗菌剤の耐性菌に対して顕著な抗菌効果を示した例は見られない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】そこで本発明は、グラム陽性菌、特にVREやMRSAに対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマー及び抗菌剤を提供することを目的とする。

【0004】

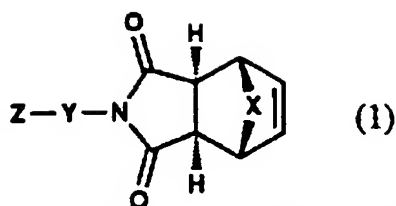
【課題を解決するための手段】本発明者らは、抗生物質に重合活性を有する構造を結合し、重合することによって各種オリゴマーを合成し、その抗菌活性を評価した結果、前記のオリゴマーが、VREやMRSAに対して優れた抗菌作用を有することを見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明は、抗生物質の化学構造を各繰返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2〜30であって、その抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌性オリゴマー、及び抗生物質に耐性を示す細菌に活性な抗菌剤であって、抗生物質の化学構造を各繰返し単位の側鎖に有し、平均重合度が2〜30の範囲であるオリゴマーを有効成分とする抗菌剤を提供する。本発明において、抗菌剤とは除菌剤を含み、「抗生物質に耐性を示す細菌に活性な」とは、該耐性菌に対して抗菌活性を示すことを意味し、とくに元の抗生物質よりも少なくとも2倍以上、通常3倍以上の抗菌活性を示すことを意味する。

【0005】

【発明の実施の形態】本発明の抗菌性オリゴマーは抗生物質に重合活性基を有する化合物を反応させて得られるモノマーを重合することによって得られる。抗生物質としては目的の重合体に導入できるものであればいかなるものでもよいが、好ましいものとしてグリコペプチド系抗生物質、特にMRSAに強い抗菌作用を示すバンコマイシン及びテイコプラニン、エレモマイシン、リストセチンA等を例示することができる。重合法はいかなるものでもよいが、反応条件が温和なものが好ましく、例えば開環メタセシス重合法を挙げることができる（Lynn, D. M., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 784）。開環メタセシス重合反応は溶媒を用い、必要に応じて界面活性剤を添加して、エマルジョン、懸濁液又は溶液の状態で行なう。溶媒としては、メタノール、エタノール、プロピルアルコール等のアルコール類、アセトン、メチルイソブチルケトン等のケトン類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等のエーテル類、ジクロロメタン等のハロゲン化炭化水素あるいはこれらあるいは水との混合溶媒を挙げることができる。とくに、得られるオリゴマーの抗菌活性の点から、溶液状態で行うことが好ましく、アルコール溶液、とくにメタノール溶液で行なうのが好ましい。重合活性基を有する化合物としては抗生物質の望む位置で反応し、続いて実施する重合反応が効率良く進むものであればどのようなものであってもよい。開環メタセシス反応を用いる場合に好ましい化合物として、下記式(1)、

【0006】

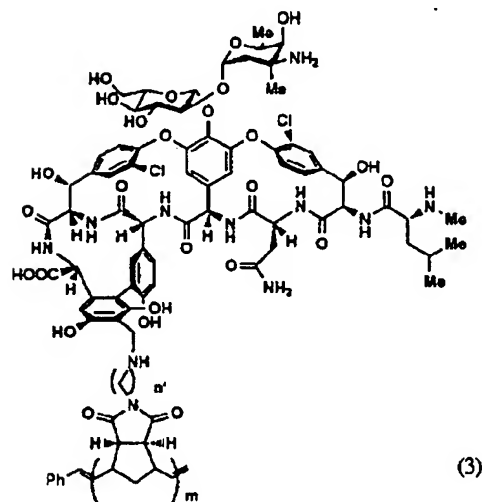
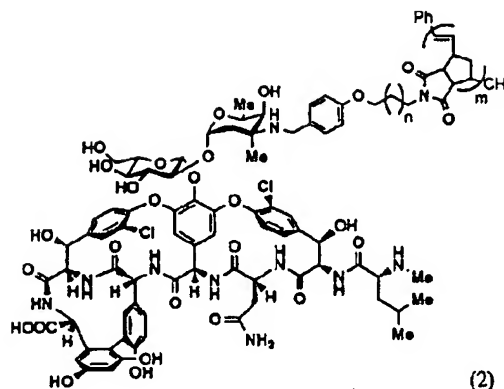
【化1】



【0007】(式中、Xはメチレン基もしくは酸素原子を示す。Yは鎖中又は末端にヘテロ原子、不飽和結合あるいは環状構造が1個又は2個以上介在していてもよく、低級アルキル基で置換されていてもよい、炭素数2から12のポリメチレン鎖を表す。Zはアミノ基又はホルミル基を表す。)で表されるノルボルネン類及び7-オキサノルボルネン類を例示することができる。ヘテロ原子としては酸素原子、イオウ原子あるいは-NR- (Rは水素原子又は低級アルキル基を表す。)を挙げることができる。不飽和結合としては炭素炭素2重結合又は炭素炭素3重結合を例示できる。環状構造としては例えば、フェニレン基、ナフチレン基、シクロヘキシレン基、シクロペンチレン基、及びシクロプレビレン基等を例示することができる。低級アルキル基とは、炭素数1から6の直鎖状もしくは分枝状のアルキル基を意味し、その具体例としてメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基を挙げることができる。重合活性基を有する化合物を抗生物質に結合する方法はどのようなものでも良いが、抗生物質側に存在するアミン、カルボン酸、芳香環等を利用してアルキル化、アシル化反応等により導入することができる。例えば、重合活性基を有する化合物のホルミル基と抗生物質のアミノ基を還元的N-アルキル化によって結合する方法 (Cooper, R. D. G. ら J. Antibiot. 1996, 49, 575-581)、あるいは重合活性基を有する化合物のアミノ基と抗生物質の活性水素及びホルムアルデヒドの間でマンニッヒ型縮合反応を行なう方法 (Pavlov, A.Y. ら J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) 等を挙げることができる。本発明における抗菌性オリゴマーとしては具体的には、下記式(2)及び(3)、

【0008】

【化2】



【0009】(式中、nは0から10までの整数、n'は1から12までの整数、またmは2から60までの整数を表す。)で示される化合物を挙げることができる。本発明の上記オリゴマーは医薬として治療のために経口的あるいは非経口的に投与することができる。経口投与剤としては散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤などの固形製剤あるいはシロップ剤、エリキシル剤などの液状製剤とすることができる。また、非経口投与剤として注射剤、粘膜投与剤、外用剤とすることができる。これらの製剤は活性成分に薬理学的、製剤学的に認容される製造助剤を加えることにより常法に従って製造される。更に公知の技術により持続性製剤とすることも可能である。当該製造助剤を用いる場合は、本発明の製剤中の有効成分の配合量は通常は0.1~20重量%、好ましくは0.2~10重量%であるが、製剤形態によっては、50重量%程度まで配合することもできる。上記製造助剤として、内服用製剤(経口剤)、注射用製剤(注射剤)、粘膜投与剤(バツカル、トローチ、坐剤等)、外用剤(軟膏、貼付剤等)などの投与経路に応じた適当な

製剤用成分が使用される。例えば、経口剤および粘膜投与剤にあっては、賦形剤（例：澱粉、乳糖、結晶セルロース、乳酸カルシウム、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、無水ケイ酸、マンニトール）、結合剤（例えばヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等）、崩壊剤（例：カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム）、滑沢剤（例：ステアリン酸マグネシウム、タルク）、コーティング剤（例：ヒドロキシエチルセルロース）、矯味剤などの製剤用成分が、また注射剤にあっては、水性注射剤を構成し得る溶解剤ないし溶解補助剤（例：注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール）、懸濁剤（例：ポリソルベート80などの界面活性剤）、pH調整剤（例：有機酸またはその金属塩）、安定剤などの製剤用成分が、さらに外用剤にあっては、水性ないし油性の溶解剤ないし溶解補助剤（例：アルコール、脂肪酸エステル

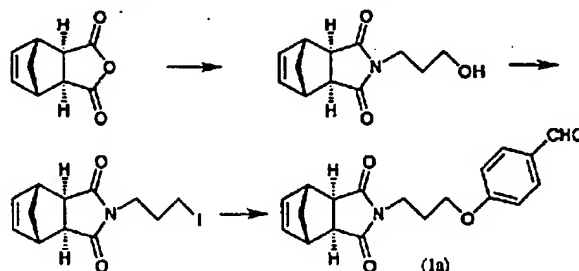
類）、粘着剤（例：カルボキシビニルポリマー、多糖類）、乳化剤（例：界面活性剤）、安定剤などの製剤用成分が使用される。上記構成を有する本発明の医薬は、公知の製造法、例えば日本薬局方第10版製剤総則記載の方法ないし適当な改良を加えた方法によって製造することができる。本発明に係る有効成分の投与量は、成人を治療する場合で1~1000mgであり、これを1日2~3回に分けて投与することが好ましい。この投与量は、患者の年齢、体重および症状などによって増減することができる。以下、実施例及び試験例により詳細に説明する。

【0010】

【実施例】実施例1. ノルボルネン誘導体(1a)の合成

【0011】

【化3】



【0012】窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5,6-ジオキソカルボン酸無水物(50 mg、0.3 mmol)をトルエン(1.5 mL)に溶解し、3-アミノ-1-プロパノール(0.7 mL)を加え、14時間加熱還流した。室温に降温した後、飽和塩化アンモニウム水溶液(5 mL)、酢酸エチル(5 mL)を加え分配した。有機層を分取し、水層を酢酸エチル(2 mL x 2)で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル 2.5 g、ヘキサン/酢酸エチル 1/1)で精製して無色油状のアルコール体(63 mg、95%)を得た。得られたアルコール体(41 mg、0.19 mmol)を窒素雰囲気下、トルエン(1.3 mL)に溶解し0℃に降温した。イミダゾール(33 mg、2.5 eq)、トリフェニルホスフィン(130 mg、2.5 eq)、ヨウ素(100 mg、2 eq)を順に加え、徐々に室温に昇温しながら2時間攪拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液(5 mL)を加え反応を停止した。これを酢酸エチル(5 mL x 2)で抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル 10 g、ヘキサン/酢酸エチル8/1→4/1)で精製して無色固

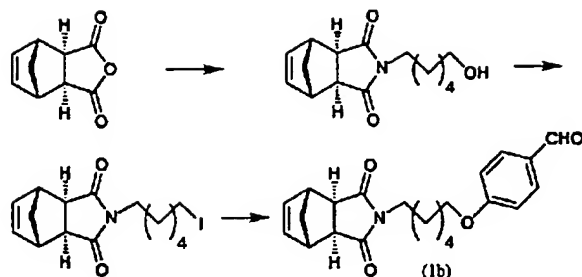
体のヨウ化物(57 mg、94%)を得た。上記ヨウ化物(279 mg、0.84 mmol)とパラヒドロキシベンズアルデヒド(116mg、1.1 eq)を、窒素雰囲気下、エタノール(5.6 mL)に溶解した。炭酸カリウム(156 mg、1.3 eq)を加え23時間加熱還流した。水(10 mL)、飽和塩化アンモニウム水溶液(10 mL)を加え反応を停止した。反応混合物を酢酸エチル(10 mL x 2)で抽出し、合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル 20 g、ヘキサン/酢酸エチル 4/1→3/1→0/1)で精製して無色油状のノルボルネン誘導体(1a、289 mg)を定量的に得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.23 (1H, d, J = 9.9 Hz), 1.52 (1H, d, J = 9.9 Hz), 2.10 (2H, m), 2.68 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.69 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.06 (2H, t, J = 6.2 Hz), 6.28 (2H, s), 6.97 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.82 (2H, J = 7.0 Hz), 9.87 (1H, s).

【0013】実施例2. ノルボルネン誘導体(1b)の合成

【0014】

【化4】



【0015】窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5, 6-εxο-ジカルボン酸無水物 (1.0 g, 6.1 mmol) をトルエン (20 mL) に溶解し、6-アミノ-1-ヘキサノール (2.1 g) を加え、12時間加熱還流した。室温に降温した後、飽和塩化アンモニウム水溶液 (30 mL)、酢酸エチル (10 mL) を加え分配した。有機層を分取し、水層を酢酸エチル (5 mL x 2) で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 40 g、ヘキサン/酢酸エチル 1/1) で精製して無色油状のアルコール体 (1.6 g, 97%) を得た。得られたアルコール体 (1.0 g, 3.8 mmol) を窒素雰囲気下、トルエン (60 mL) に溶解し 0°C に降温した。イミダゾール (655 mg)、トリフェニルホスフィン (2.5 g)、ヨウ素 (2.0 g) を順に加え、徐々に室温に昇温しながら 10 時間攪拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液 (80 mL) を加え反応を停止した。これを酢酸エチル (20 mL x 2) で抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 60 g、ヘキサン/酢酸

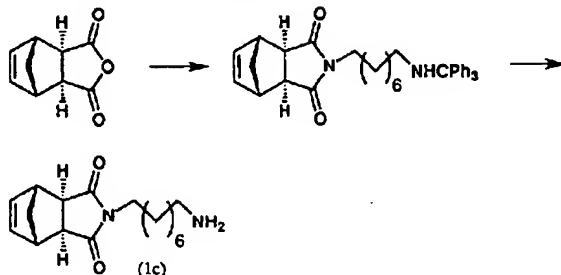
エチル 4/1) で精製して無色固体のヨウ化物 (1.1 g, 76%) を得た。上記ヨウ化物 (778 mg, 2.1 mmol) とパラヒドロキシベンズアルデヒド (315 mg, 1.2 eq) を、窒素雰囲気下、エタノール (15 mL) に溶解した。炭酸カリウム (398 mg, 1.4 eq) を加え 17 時間加熱還流した。水 (20 mL)、飽和塩化アンモニウム水溶液 (40 mL) を加え反応を停止した。反応混合物を酢酸エチル (30 mL x 2) で抽出し、合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 50 g、ヘキサン/酢酸エチル 3/1→1/1) で精製して無色油状のノルボルネン誘導体 (1b, 763 mg) を定量的に得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.23 (1H, br.d, J = 9.2 Hz), 1.32-1.64 (7H, complex), 1.81 (2H, m), 2.67 (2H, s), 3.27 (2H, s), 3.48 (2H, t, J = 7.5 Hz), 4.03 (2H, t, J = 6.4 Hz), 6.98 (2H, s), 6.98 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.83 (2H, J = 8.8 Hz), 9.88 (1H, s).

実施例 3. ノルボルネン誘導体 (1c) の合成

【0016】

【化 5】



【0017】窒素雰囲気下、cis-ノルボルネン-5, 6-εxο-ジカルボン酸無水物 (633 mg, 3.86 mmol) をトルエン (15 mL) に溶解し、N-トリチル-1, 8-ジアミノオクタン (736 mg) を加え、5 時間加熱還流した。室温に降温した後、減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 25 g、ヘキサン/酢酸エチル 5/1) で精製して無色油状の N-トリチルアミン (611 mg, 60%) を得た。得られた N-トリチルアミン (563 mg, 1.1 mmol) を塩化メチレン (10 mL) に溶解し、0°C でトリフルオロ酢酸 (0.3 mL) を加え 15 分間攪拌した。室温に昇温し、さらに 20 分間攪

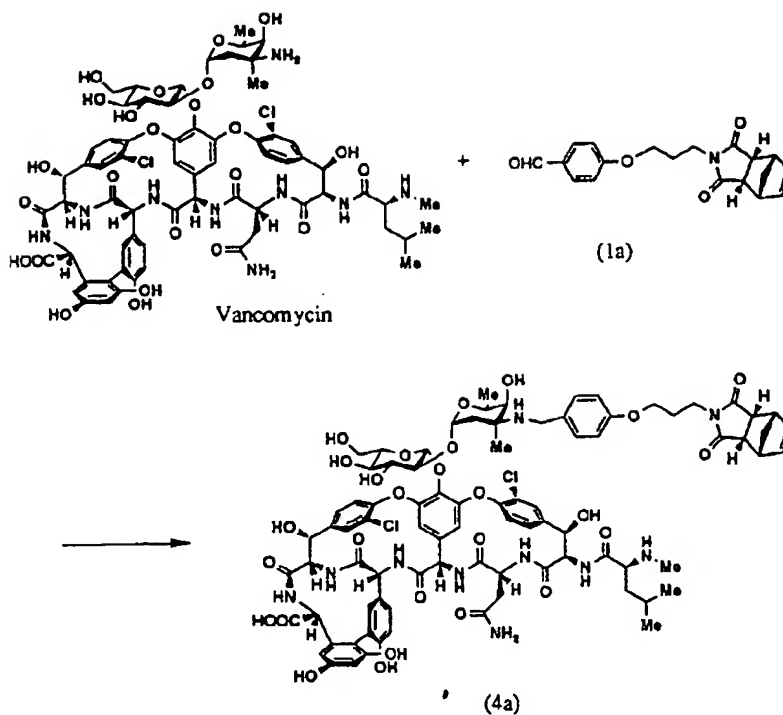
拌を続けた後、反応混合物を減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 30 g、1% トリエチルアミン含有クロロホルム/メタノール 1/0→5/1) で精製して油状のノルボルネン誘導体 (1c, 307 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.20-1.69 (14H, complex), 2.67 (2H, d, J = 0.7 Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.7 Hz), 3.26 (2H, s), 3.43 (2H, t, J = 7.5 Hz), 6.28 (2H, t, J = 1.6 Hz).

実施例 4. モノマー (4a) の合成

【0018】

【化6】



【0019】アルゴン雰囲気下、室温でノルボルネン誘導体(1a、131 mg)とバンコマイシン(vancomycin)塩酸塩(504mg、0.34 mmol)をメタノール(10 mL)に溶解した。N, N-ジイソプロピルエチルアミン(0.13 mL)を加え70℃に昇温し2時間攪拌した。シアノ水素化ホウ素ナトリウム(25 mg)を加え、同温で10時間攪拌を続けた。N, N-ジメチルホルムアミド(2 mL)を加え、さらに10時間攪拌した。室温でメタノール(5 mL)を加え反応を停止し、これを減圧濃縮して得られた残渣を、カラムクロマトグラフィー(コスモシー

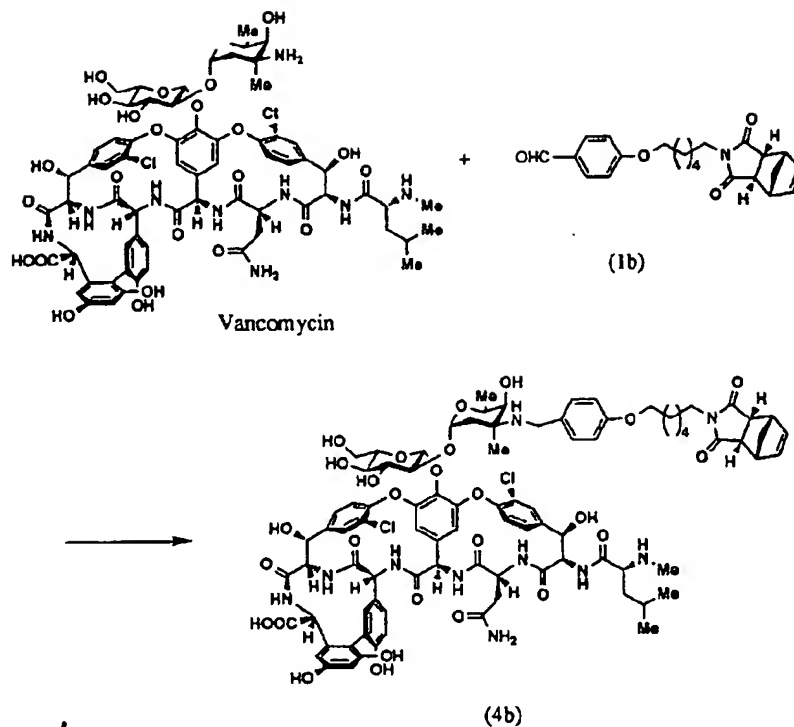
ル75C18-OPN 50 g、1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/2)で精製し、無色固体のモノマー(4a、188 mg、30%)を得た。得られたモノマーの¹H-NMRスペクトルを図1に示す。

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1757 [M+H]⁺, 1304, 1143, 617.

実施例5. モノマー(4b)の合成

【0020】

【化7】



【0021】アルゴン雰囲気下、室温でノルボルネン誘導体(1b、101 mg)とバンコマイシン塩酸塩(375 mg、0.25 mmol)をメタノール(8 mL)に溶解した。N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.092 mL)を加え70℃に昇温し2時間攪拌した。シアノ水素化ホウ素ナトリウム(19 mg)を加え、同温で14時間攪拌を続けた。室温でメタノール(3 mL)を加え反応を停止し、これを減圧濃縮し得られた残渣を、カラムクロマトグラフィ

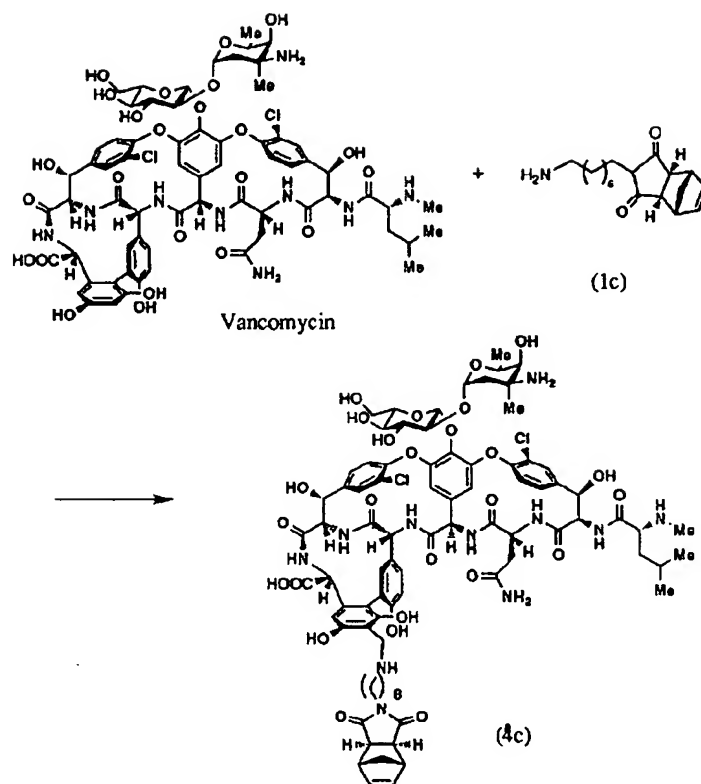
ー(コスモシル75C18-OPN 40 g、1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/3→1/2→1/1)で精製し、無色固体のモノマー(4b、161 mg、36%)を得た。得られたモノマーの¹H-NMRスペクトルを図2に示す。

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1799 [M+H]⁺.

実施例6. モノマー(4c)の合成

【0022】

【化8】



【0023】30%ホルムアルデヒド水溶液 (19 mg) をアセトニトリル (0.5 mL) と水 (0.5 mL) の混合溶媒に溶解し、室温でノルボルネン誘導体 (1c、98 mg、10 eq) を加えた。この混合溶液を0℃に冷却し、バンコマイシン塩酸塩 (50 mg、0.033 mmol) を加え、同温で12.5時間攪拌した。5M塩酸を加えて、系内を約pH4とした。反応混合物にアセトン (9 mL) を加えて析出した固体を遠心分離し、カラムクロマトグラフィー (コスモシル75C18-OPN 30 g、1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/4) で精製し、無色固体のモノマー (4c、30 mg、49%) を得た。¹H-NMRスペクトルにおいて、バンコ

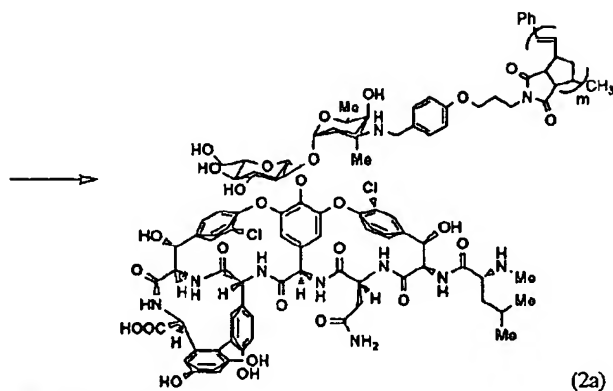
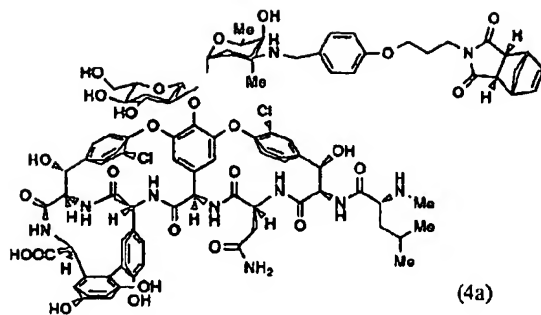
マイシン、モノマー (4a) 及び (4b) では6.4 ppm付近に2本の二重線シグナルとして観測されるレゾルシノール環の2個のプロトンが、プロトン1個分の二重線1本になっていること、並びに関連化合物に関する報告 (Pavlov, A.Y. ら J. Antibiot. 1997, 50, 509-513) から、上記のモノマー (4c) の構造を確認した。¹H-NMRスペクトルを図3に示す。

MALDI-TOF MS (matrix DHB): m/z 1750 [M+H]⁺

実施例7. オリゴマー (2a) の合成

【0024】

【化9】



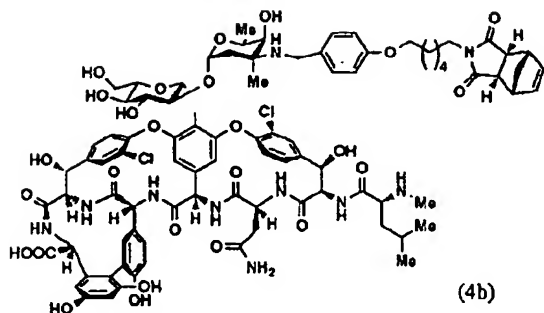
【0025】アルゴン雰囲気下、実施例4で得たモノマー（4a、16 mg、0.0087 mmol）をメタノール（100 μ L）に溶解し、ビス（トリシクロヘキシルホスフィン）ベンジリデンルテニウム（IV）二塩化物（グラブス（Grubbs）触媒、2 mg、16 mol%）の1，2-ジクロロエタン溶液（50 μ L）を滴下した。35分後、メタノール（100 μ L）を加え攪拌した。さらに、メタノール（100 μ L）、水（100 μ L）を加え攪拌し、42時間後エチルビニルエーテル（0.1 mL）を加え2時間攪拌した。

メタノール（2 mL）を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（コスモシール 10 g、1% TFA含有CH₃CN/H₂O 1/3→1/1）で精製しオリゴマー（2a、分子量分布 3k~70k、9.6 mg）を無色固体として得た。得られたオリゴマーの¹H-NMRスペクトルを図4に示す。

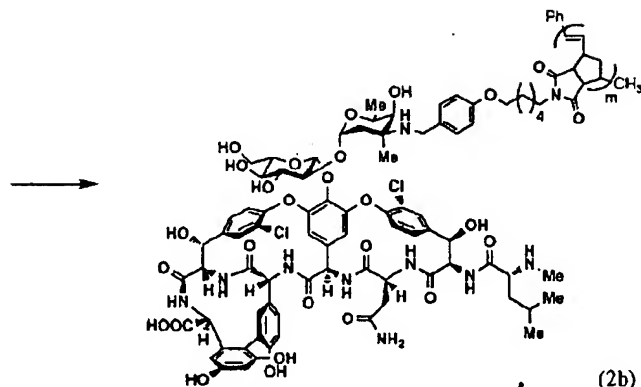
実施例8. オリゴマー（2b）の合成

【0026】

【化10】



(4b)



(2b)

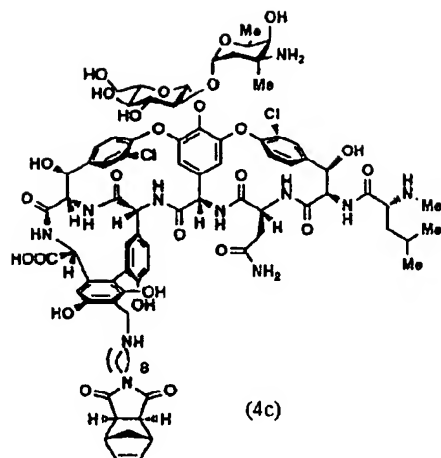
【0027】アルゴン雰囲気下、実施例5で得たモノマー（4b、49 mg、0.026 mmol）をメタノール（300 μ L）に溶解しグラブス触媒（2.2 mg、10 mol%）の1, 2-ジクロロエタン溶液（150 μ L）を滴下し45時間攪拌した後エチルビニルエーテル（0.1 mL）を加え3.5時間攪拌した。メタノール（2 mL）を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（コ

スモシール 30 g、1%TFA含有 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/2 \rightarrow 1/1）で精製しオリゴマー（2b、分子量分布 3k \sim 70k、7 mg）を無色固体として得た。得られたオリゴマーの $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを図5に示す。

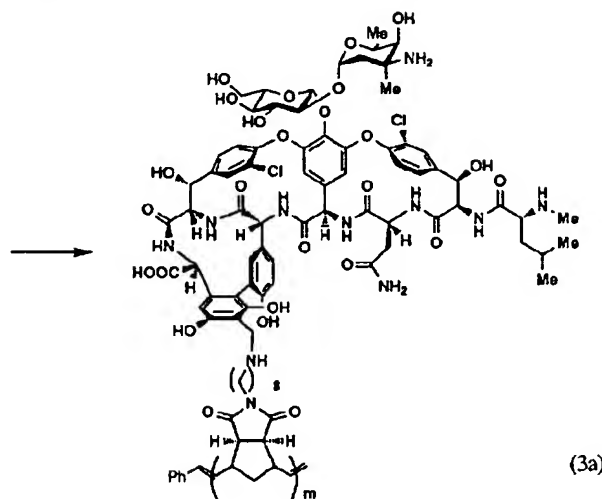
実施例9. オリゴマー（3a）の合成

【0028】

【化11】



(4c)



(3a)

【0029】アルゴン雰囲気下、ドデシルテトラメチルアンモニウムブロミド (8 mg, 1.6eq)、実施例6で得たモノマー (4c、29 mg, 0.017 mmol) を水 (100 μ L) に溶解した。この混合物に室温で攪拌しながらグラブス触媒 (1.3 mg, 35 mol%) の1, 2-ジクロロエタン溶液 (50 μ L) を滴下した。12時間後、グラブス触媒 (1.7 mg, 45 mol%) を1, 2-ジクロロエタン (50 μ L) 溶液として追加しさらに同温で26時間攪拌した。エチルビニルエーテル (0.1 mL) を加えた後65 $^{\circ}$ Cに昇温し、3時間攪拌した。メタノール (2 mL)、水 (2 mL)、アセトニトリル (2 mL) を加えた。これを減圧濃縮し得られた残渣を、カラムクロマトグラフィー

(コスモシール 50 g、1% TFA含有 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/2) で精製し、オリゴマー (3a、分子量分布 3k~100k、9.7 mg, 33%) を無色固体として得た。得られたオリゴマーの ^1H -NMRスペクトルを図6に示す。

試験例 1

抗菌試験を日本化学療法学会 MIC測定法改訂委員会による日本化学療法学会標準法 に準拠した方法によって実施した。最小発育阻止濃度 (MIC) 測定については同測定法再改訂に関する報告 (Chemotherapy, 1981, 29, 76) に従った。結果を表1に示す。

【0030】

【表1】

表 1. 抗菌試験結果

試料	MIC (μ g/ml)			
	<i>S. aureus</i> ^a	<i>Enterococcus</i> ^b	VRE (Van A) ^c	VRE (Van B) ^d
バンコマイシン	0.2	< 0.5	> 250	125
2 a	2.3	2	31	2
2 b	-	-	31	3.9

a M R S A を含む 6 種の黄色ブドウ球菌の平均

b *Enterococcus faecalis*

c HCB40

d RV1

【0031】

【発明の効果】本発明は細菌、とくにグラム陽性菌、なかでもバンコマイシン耐性腸球菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対して優れた抗菌作用を有する新規抗菌性オリゴマーに関するものであり、耐性菌に対する抗菌剤、除菌剤としての用途を有する。

【図面の簡単な説明】

【図1】 モノマー (4 a) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

【図2】 モノマー (4 b) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

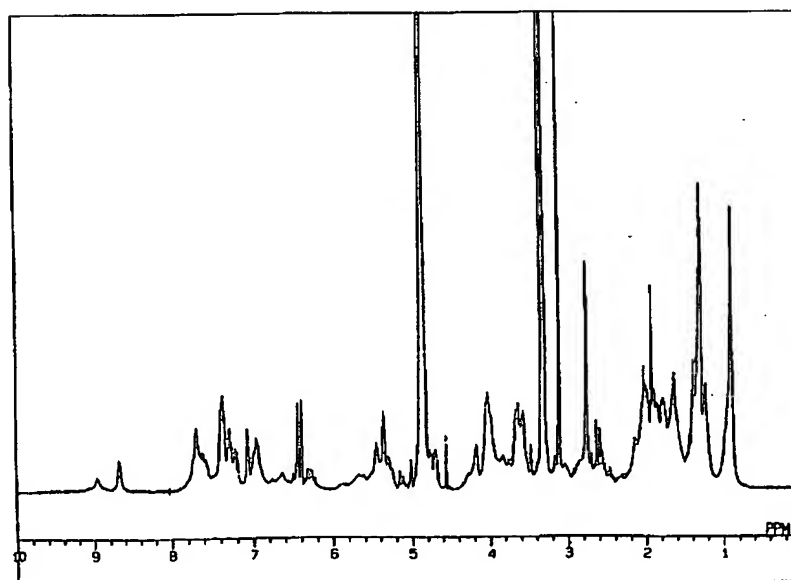
【図3】 モノマー (4 c) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

【図4】 オリゴマー (2 a) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

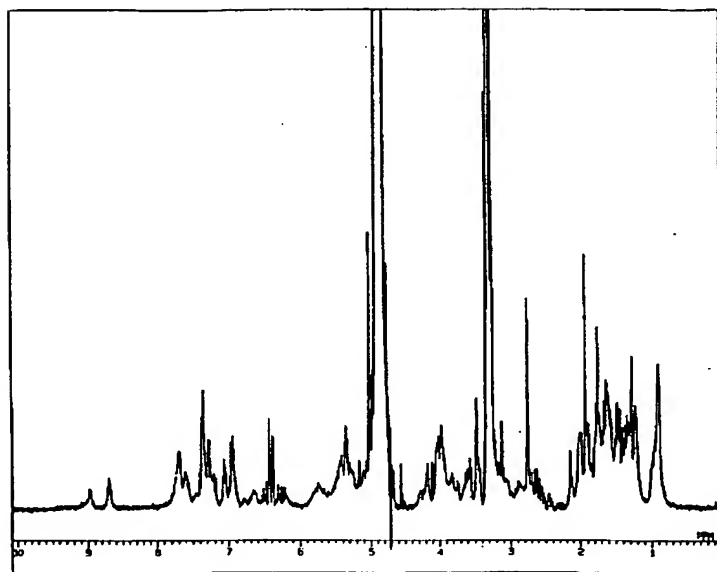
【図5】 オリゴマー (2 b) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

【図6】 オリゴマー (3 a) の¹H-NMRスペクトル (400MHz, CD₃OD) を示す図である。

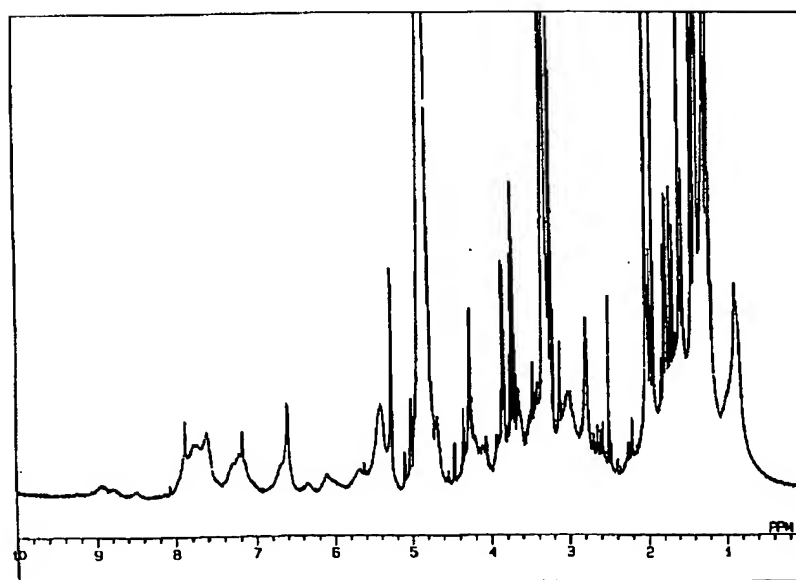
【図1】



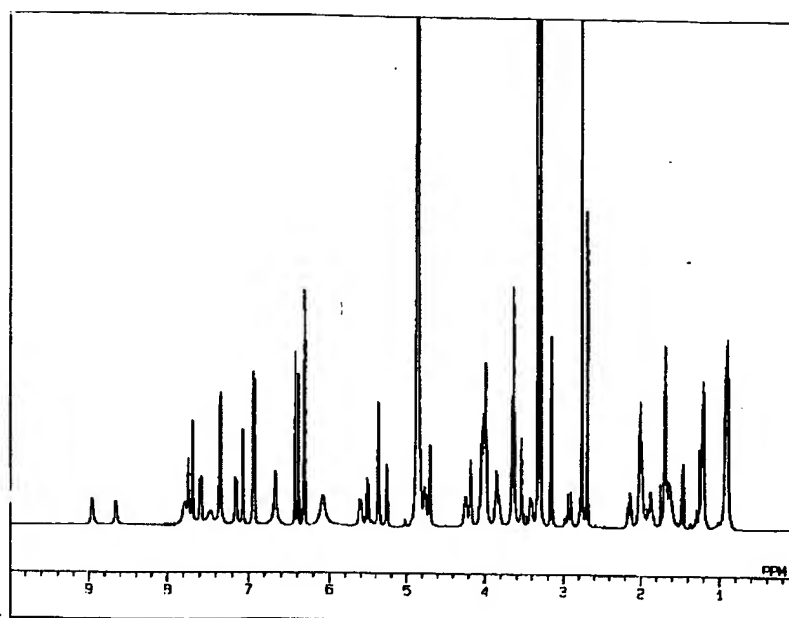
【図2】



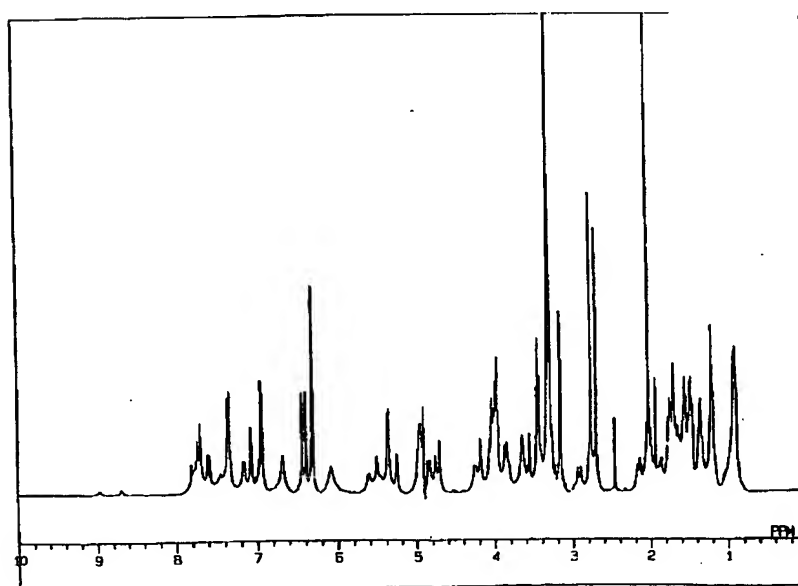
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

